





VORLESUNGEN

ÜBER

KLINISCHE HÄMATOLOGIE.

ERSTER TEIL.

VORLESUNGEN

ÜBER

KLINISCHE HÄMATOLOGIE

VON

DR. WILHELM TÜRK

PRIVATDOZENTEN UND ASSISTENTEN DER II. MEDIZINISCHEN KLINIK (HOFRAT NEUSSER) AN DER K. K. UNIVERSITÄT WIEN.

ERSTER TEIL:

METHODEN DER KLINISCHEN BLUTUNTERSUCHUNG.

ELEMENTE DER NORMALEN UND PATHOLOGISCHEN HISTOLOGIE DES BLUTES.

MIT 15 ABBILDUNGEN IM TEXTE.



WIEN UND LEIPZIG.

WILHELM BRAUMÜLLER,

K. U. K. HOF- UND UNIVERSITÄTS-BUCHHÄNDLER

1904.

B

DRUCK VON FRIEDRICH JASPER IN WIEN.

SEINEM VEREHRTEN LEHRER

HERRN

HOFR. PROF. DR. EDMUND NEUSSER

WIDMET DIESE ARBEIT

IN TREUER DANKBARKEIT

DER VERFASSER.

Vorwort.

Von Jahr zu Jahr wächst seit einem Jahrzehnt die Bedeutung der Blutuntersuchung; jeden Augenblick erscheinen hämatologische Arbeiten, und die Literatur unseres Spezialgebietes ist schon jetzt beinahe unübersehbar geworden. Es ist nur eine natürliche Folge dieser ungeahnten Entwicklung der Hämatologie, wenn die Blutuntersuchung in der Klinik sowohl als in der Praxis immer allgemeinere Anwendung findet und auf dem besten Wege ist, sich in der Diagnostik eine gleichwertige Stellung mit der mikroskopischen, chemischen und bakteriologischen Untersuchung der Sekrete und Exkrete zu erringen.

Einer solch allgemeinen Verwendung steht aber e i n Umstand hindernd im Wege: Die Blutuntersuchung ist eine technisch schwierige Aufgabe und erfordert eine sehr genaue Sachkenntnis und viele Übung und Erfahrung, wenn ihre Ergebnisse verläßlich und brauchbar sein sollen. Man kann das nicht genug betonen, und muß es um so mehr hervorheben, je mehr und je allgemeiner Blut untersucht wird. Gewiß sind sehr viele Befunde, welche heute zur Grundlage von Schlüssen oder Maßnahmen gemacht werden, nicht in einwandfreier Weise gewonnen worden. Daran mag zum großen Teile eine Lücke in unserer hämatologischen Literatur schuld sein. Wir fordern auf der Klinik von manchem jungen Arzte oder gar Studenten, daß er einen Blutbefund aufnehme, und bedenken nicht, daß er das nirgends gelernt hat. Nun, auf der Klinik findet er ja schließlich Hilfe und Rat, aber es ist nicht überall so; und auch auf der Klinik mangelt es oft

an der Zeit, jede Kleinigkeit zu zeigen und zu besprechen. Da sollten also, wie in anderen Disziplinen, die Lehrbücher helfen.

Man sehe aber einmal die Lehrbücher der klinischen Untersuchungsmethoden, man sehe jene fast in allen Sprachen erschienenen großen Werke, welche sich mit Vorliebe als „Pathologie des Blutes“ betiteln, ja man sehe selbst die „Anleitungen zur klinischen Blutuntersuchung“ an. Überall findet man das Prinzip der Methoden angegeben, hie und da ist auch irgend eine Methode, welche der betreffende Autor besonders begünstigt, ausführlicher beschrieben; nirgends aber findet sich eine ins einzelne gehende Darlegung der Technik. Und gerade auf die unscheinbaren Kleinigkeiten kommt alles an; wer die Handgriffe nicht beherrscht, wird nichts erzielen. Eine Anleitung für diese Einzelheiten aber fehlt in der Literatur aller Sprachen.

Noch ein zweiter Übelstand spielt eine große Rolle. Die Hämatologie ist jung, und es gibt in ihr eine ganz beträchtliche Reihe ungeklärter Fragen. Das wäre an sich kein Unglück. Aber gerade dort, wo klare Begriffe fehlen, ist an Namen und Worten ein Überfluß. Bei uns an Namen; und zwar an verschiedenen Namen für die gleichen und an gleichen Namen für verschiedene Dinge. Wenn heute einer, um nur ein Beispiel anzuführen, von „großen Lymphozyten“ spricht, so bleibt dem Hörer nichts übrig, als zu fragen: Was verstehen Sie darunter? Die so in manchem Kapitel der Blutlehre künstlich geschaffene und aufrecht erhaltene Verwirrung oder Unklarheit trägt auch das Ihrige dazu bei, um eine allgemeine Verständigung zu erschweren. — Auch diesem Übelstande helfen unsere Lehrbücher nicht ab, im Gegenteile, sie steigern ihn eher.

In diesen Punkten Wandel zu schaffen, soweit es in meinen Kräften steht — das war der leitende Gesichtspunkt bei der Abfassung meiner „Vorlesungen über klinische Hämatologie“, deren ersten Teil ich hiemit der Öffentlichkeit übergebe. Ich bitte, sie auch von diesem Standpunkte aus zu beurteilen.

Ich verfolge vor allem den Zweck, den Leser in das ganze Gebiet einzuführen, ihm alles, was wir wirklich wissen, und was für ihn zu wissen von Wert ist, vor Augen zu führen und ihm über das Strittige die vorliegenden Meinungen und gegebenen Falles die eigene Meinung als solche zu sagen. Fachleute brauchen im allgemeinen keine Lehrbücher, und Lernenden ist es zumeist gar nichts nütze, wenn sie über Streitigkeiten der Fachgelehrten unterrichtet werden. Es ist also schwer, den Wünschen beider gerecht zu werden.

Ich habe es versucht, zunächst den Lernenden gerecht zu werden und ihnen alles zu bieten, was sie in Klinik und Praxis tatsächlich brauchen. Und da ich der Überzeugung bin, daß nichts das Lernen mehr erschwert, als wenn ein bestimmtes Maß von Sonderwissen, das eben doch nicht alle haben, vorausgesetzt wird, habe ich gar nichts vorausgesetzt und die für den Anfänger bestimmten Kapitel dementsprechend gefaßt; das betrifft also vor allem die Methodik. — Auf der anderen Seite ist es nicht möglich, die Bluthistologie abzuhandeln, ohne in großen Zügen auf die Forschungen der letzten Jahre einzugehen, die vielen einander teilweise widersprechenden Auffassungen der Autoren zu sichten und soweit als möglich kritisch zu verarbeiten. Die diesbezüglichen Kapitel werden also außer dem für jeden Blutuntersucher Unentbehrlichen auch Literaturübersichten und die Erörterung manchen Problems enthalten. Ich habe mich auf das Belangreiche beschränkt und glaube daher einerseits, daß auch diese Kapitel für den Lernenden nutzbringend sein werden, während ich andererseits zu hoffen wage, daß durch die in ihnen enthaltene Niederlegung meiner eigenen Erfahrungen und Anschauungen meine Arbeit auch für den Fachmann Interesse und eine gewisse Bedeutung gewinnen könne.

Der vorliegende erste Teil der „Vorlesungen" behandelt die Methoden der klinischen Blutuntersuchung und die Elemente der normalen und pathologischen Histologie des Blutes. Er umfaßt also die Grundlagen der gesamten Hämatologie und stellt sonach

eine in gewisser Hinsicht abgeschlossene Einheit dar. Im zweiten Teile, welcher im nächsten Herbste oder längstens Winter erscheinen soll, gedenke ich die Hämatologie der Erkrankungen der blutbereitenden Organe und des Blutes sowie die wesentlichen Veränderungen des Blutes bei andersartigen Erkrankungen, soweit ihnen eine klinische und praktische Bedeutung zukommt, abzuhandeln.

Ich muß noch eines bemerken. Man ist es gewohnt und fordert es, daß einer Arbeit von der Art der meinen Blutbildtafeln beigegeben seien. Man wird solche vorläufig in meinem Büchlein vermissen. Ich habe nicht die Absicht, sie ganz fehlen zu lassen. Aber ich meine, daß keine Bilder besser sind als wenig gelungene; und gute Bilder erfordern viel Zeit und Mühe. Die Beigabe guter Tafeln zu dieser ersten Hälfte meiner Arbeit hätte ihr Erscheinen um Monate verzögert. Da mir dies nicht wünschenswert erschien, habe ich mich entschlossen, die zu den Kapiteln über Bluthistologie gehörigen Tafeln erst vereint mit den Tafeln des zweiten Teiles, mit welchen sie ein organisches Ganzes bilden, erscheinen zu lassen.

Wien, im April 1904.

W. Türk.

Inhaltsübersicht.

1. Vorlesung.

(Einleitung. Blutentnahme. Spektralanalyse. Hämometrie.)

Die unerläßliche Grundlage für die diagnostische, prognostische und therapeutische Verwertung irgend eines klinischen Befundes ist dessen unbedingte Verläßlichkeit innerhalb der für die betreffende Untersuchung erreichbaren Grenzen der Genauigkeit. Verläßliche Befunde aber kann nur derjenige erheben, der nicht eben nur das Prinzip der zu verwendenden Methode kennt, sondern auch alle jene oft kleinen und kleinlich aussehenden Einzelheiten und Griffe beherrscht, die sich bei der praktischen Durchführung der Untersuchung ergeben, und von deren richtiger Ausnützung und Anwendung nur zu oft die Genauigkeit der Ergebnisse in hohem Grade abhängig ist. Dies gilt schon ganz im allgemeinen. Mit besonderem Nachdrucke aber möchte ich diese Anschauung für die klinische Blutuntersuchung geltend machen, die ohne Frage eines der technisch schwierigsten Hilfsgebiete der klinischen Medizin darstellt, und deren Methoden genau gekannt, beherrscht und geübt sein wollen, ehe es gelingt, Ergebnisse zu erzielen, die man mit gutem Gewissen als brauchbar und verläßlich bezeichnen kann.

Es ist notwendig, das besonders zu betonen, da in den letzten Jahren die klinische Blutuntersuchung gegen frühere Zeiten ganz ungeheuer an Bedeutung und Allgemeinheit der Verwendung gewonnen hat und noch immer gewinnt. Nicht nur ein verhältnismäßig kleiner Kreis von Forschern beschäftigt sich mehr mit ihr, sondern sie ist dem Rüstzeug der internen Klinik ganz allgemein eingefügt worden, und nicht nur die Internisten bedienen sich ihrer, sondern auch die Chirurgen, Gynäkologen und Dermatologen haben sich einzelne ihrer Methoden nutzbar gemacht und bauen auf deren Ergebnissen diagnostische Schlüsse und therapeutische Maßnahmen von der größten Tragweite auf.

Unter diesen Umständen tut es nun doppelt not, hervorzuheben, daß der eine Teil der hämatologischen Untersuchungsmethoden, ihrer Art entsprechend, naturgemäß sehr beträchtlichen und unvermeidlichen Fehlerquellen unterworfen ist, welche durch eine ungeschickte oder irgendwie nachlässige Handhabung der Technik ins Ungemessene gesteigert werden können, während der andere Teil eine ziemlich große Übung in der Mikroskopie überhaupt und einen nur durch Schulung erreichbaren sicheren Blick erfordert. Bilde sich nur ja keiner ein, daß er Blut untersuchen könne, wenn er das hierauf bezügliche Kapitel in einem der gebräuchlichen Lehrbücher der klinischen Untersuchungsmethoden auch noch so gründlich studiert hat! Alle diese Anleitungen beschränken sich auf die Angabe des Prinzipes der Methoden und vernachlässigen die kleinen Handgriffe der Ausführung. Damit ist nichts gewonnen; denn gerade von der peinlichen Exaktheit jedes einzelnen Handgriffes hängt die Genauigkeit der ganzen Untersuchung ebensosehr ab, wie von der Wahl der Methode. Diese peinliche Exaktheit läßt sich aber nur dann ohne Zeitverlust erwerben, wenn der Lernende auf alle jene kleinen Umstände, die in ihrer Gesamtheit die Hauptsache bilden, aufmerksam gemacht wird und sich selber übt, bis alles tadellos klappt. Erst dann darf er voraussetzen, daß ihm keine gröberen Untersuchungsfehler unterlaufen, und erst dann ist er berechtigt, seine Befunde diagnostisch oder anderweitig zu verwerten.

Wäre man immer und überall in der Wahl der Methoden mit der unbedingt notwendigen Kritik vorgegangen, und hätte man zweitens in ihrer Ausführung die eben entwickelten Grundsätze immer befolgt, so wäre gar mancher Irrtum nicht begangen worden und mancher sicher falsche Befund und manche irrtümliche Anschauung, die in der hämatologischen Literatur infolge kritikloser Verbreitung Wurzel gefaßt haben, wären vermieden worden.

Es wäre dringend wünschenswert, daß in der Hämatologie wie anderwärts eine möglichste Einheitlichkeit in der Wahl der Methoden Platz griffe, und daß, solange dies nicht erreicht ist, jedem Befunde, der zur Publikation kommt, beigefügt werde, auf welche Weise er gewonnen wurde. Und weiters halte ich es für unerläßlich, daß eine Anleitung zur klinischen Blutuntersuchung auf alle die kleinen Handgriffe und kleinlich scheinenden Nebenumstände, welche die Genauigkeit der Untersuchung zu beeinflussen vermögen, gewissenhaft eingehe, wie sie anderer-

seits in der Empfehlung und Auswahl der Methoden selbst eine gerechte Kritik nicht vermissen lassen darf.

Wenn ich Ihnen also, meine Herren, in der folgenden ersten Hälfte meiner Vorlesungen hie und da den Vorwurf der Pedanterie und der Kleinigkeitskrämerei zu verdienen scheine, so will ich mir das gerne gefallen lassen. Es ist meine feste Absicht, nach dem eben gegebenen Grundsatze vorzugehen, ob Sie im stillen schelten oder nicht. Wenn Sie sich selbst praktisch in der Blutuntersuchung betätigen werden, wird Ihr Urteil zuversichtlich günstiger lauten. Und erwarten Sie weiters nicht von mir, daß ich über alle Apparate und Methoden, die irgendwo und irgendwann angewendet werden oder wurden, Bericht erstatte, und daß ich Ihnen alles sage, was in der Hämatologie mit Recht oder Unrecht gefunden oder behauptet worden ist. Meine Auseinandersetzungen sollen den Zweck haben, in der ersten Hälfte zunächst diejenigen Methoden der Blutuntersuchung, welche dermalen für die klinische und praktische Medizin in Betracht kommen, in der mir geeignet und geboten erscheinenden Auswahl eingehend zu besprechen, während ich allen Ballast ohne weitere Rücksicht beiseite zu lassen gedenke, und dann sollen sie die Elemente der normalen und pathologischen Histologie des Blutes in genügender Ausführlichkeit erörtern. In der zweiten Hälfte der Vorlesungen will ich hernach die klinische Hämatologie der Erkrankungen des Blutes und der blutbereitenden Organe abhandeln und schließlich, soweit dies ohne Weitschweifigkeit in theoretischen Auseinandersetzungen möglich ist, auch darauf eingehen, inwieweit der Blutbefund bei anderen Erkrankungen des Organismus der Klinik und Praxis in diagnostischer, prognostischer und therapeutischer Hinsicht nutzbar gemacht zu werden vermag.

Ich gehe nun gleich über zur Besprechung der

Blutentnahme.

Für eine gewöhnliche klinische Blutuntersuchung benötigen wir nur eine mäßige Anzahl von Tropfen Blutes, die wir bequem aus einer kleinen Stich- oder besser einer kleinen Schnittwunde im Ohrläppchen oder in einer Fingerkuppe gewinnen. Ich ziehe im allgemeinen das Ohrläppchen als Stelle der Blutentnahme vor, und zwar aus folgenden Gründen. Zunächst ist der Einstich ins Ohrläppchen wirklich beinahe schmerzlos, selbst wenn man es

Ort der Blutentnahme. Ohrläppchen.

ganz durchsticht, und auch die empfindlichsten Frauen jammern höchstens vorher. Man wird also auch bei wiederholter Untersuchung des Schmerzes halber nicht leicht auf Widerstand stoßen. Ein tiefer Einstich in die Fingerbeere ist immerhin ziemlich empfindlich. Zweitens ist die Wahrscheinlichkeit einer Verunreinigung der kleinen Wunde am Ohrläppchen wesentlich geringer als am Finger, und drittens habe ich immer die Erfahrung gemacht, daß es viel leichter gelingt, die notwendige Zahl von Bluttropfen in der richtigen Größe und ohne Druck aus dem Ohrläppchen zu bekommen als aus den Fingern, ausgenommen jene Fälle, wo das Läppchen gar zu dünn und gefäßarm ist. Aus der Fingerbeere bekommt man gewiß bei einem entsprechend tiefen Einstich zunächst im allgemeinen eine größere Menge Blut als aus dem Ohrläppchen, mehr sogar als einem gewöhnlich lieb ist. Wenn man also z. B. Trockenpräparate streichen will, muß man zunächst komprimieren, um kleinere Tröpfchen einzeln auffangen zu können, hat man dies aber getan, dann kommt zumeist gar kein Blut mehr zum Vorschein, man muß drücken, und oftmals kräftig drücken, um etwas hervorzubringen. Daß ein solches stärkeres Drücken unter allen Umständen zu vermeiden ist, wird jedem klar sein, der gesehen hat, wie manchmal hiebei zunächst überhaupt nur ein Tröpfchen klares Serum, Lymphe, aus der Wunde hervorgepreßt wird, dem sich erst später Blut beimengt. Bei einem solchen Vorgehen sind doch niemals richtige Resultate zu erzielen! Kein Mensch weiß, wieviel Gewebsflüssigkeit er dem herausgepreßten Blute beigemengt hat, in welchem Grade er also das Blut verdünnt und seine Resultate geschädigt hat. Ich habe auf der Klinik oft und oft die Erfahrung gemacht, daß die jungen Herren, die aus Bequemlichkeit den Finger zur Blutentnahme benützten, weitaus zu niedrige und durchaus falsche Zahlenwerte bekamen, offenbar vorwiegend deshalb, weil sie eine unbestimmbare Menge Gewebsflüssigkeit in ihren Bluttropfen hineinpreßten. Unter gar keinen Umständen darf also irgend ein wesentlicher Druck bei der Blutentnahme für jene Untersuchungen in Anwendung kommen, bei denen es sich um Feststellung von Zahlenwerten handelt. Kommt ohne Druck kein Blut mehr, so muß die Wunde eben aufgefrischt oder es muß eine neue gemacht werden.

Fingerbeere.

Kleine Handgriffe.

Am Ohrläppchen sind die Verhältnisse wesentlich günstiger, aber man muß selbst hiebei eine gewisse Geschicklichkeit besitzen. Zunächst sticht man nicht in den Rand des Ohrläppchens,

sondern mitten in seine Fläche, indem man von unten her das Läppchen mit dem Daumen der linken Hand hebt und stützt, und von oben her mit einem schnellen Stich bis tief in den Knorpel eindringt; es schadet auch gar nichts, wenn man mit der Spitze bis an die untere Seite gelangt, der Schmerz ist nicht größer; bis in den Knorpel aber muß man wenigstens kommen. Ebenso rasch, wie man gestochen, ziehe man die Lanzette zurück. Läßt man nun das Läppchen wieder in seine natürliche Lage zurücksinken, so kommt gewöhnlich, wenn es nicht sehr hyperämisch oder das Blut nicht sehr dünn ist, gar kein Blut oder nur ein kleines Tröpfchen; sowie man aber durch Anlegen des Daumens von unten her das Läppchen emporhebt oder seine obere Fläche konvex gestaltet, klaffen die Ränder der kleinen Wunde und ohne jeden Druck quillt langsam ein Bluttropfen hervor, den man nun so groß werden läßt, als man es eben braucht. Der erste Tropfen wird immer mit einem reinen Tuche weggewischt, und für jedes neue Präparat, für jede Zählung wird ein frischer Tropfen verwendet. Wenn die Verhältnisse nicht gar zu ungünstig liegen, gelingt es mir immer, aus einer einzigen Stichwunde eine genügende Anzahl von Bluttropfen für alle gewünschten Untersuchungen zu bekommen. Ist die Wunde einmal bei längerer Pause, z. B. während des Füllens einer Kammer, verklebt, so braucht man nur durch einen stärkeren Druck mit dem reinigenden Tuche das Gerinnsel zu entfernen und den ersten jetzt hervorquellenden Tropfen zu entfernen, dann kommt gewiß wieder spontan genug Blut zum Vorschein. Ich bekomme ganz gewöhnlich aus einem einzigen Stich mehr als genug Blut für die Zählung der weißen und roten Blutkörperchen, für Hämoglobinbestimmung, natives Präparat und zehn oder mehrere Trockenpräparate. Blutet es ausnahmsweise etwas weniger, so ist ein zweiter Einstich immer besser als drücken.

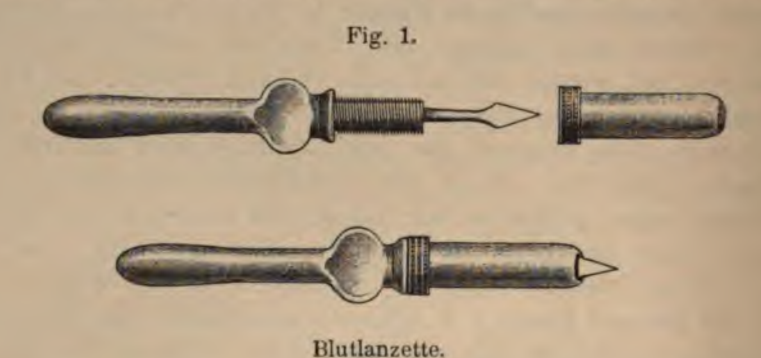
Die Fingerkuppe verwende ich nur dann zur Blutentnahme, wenn das Ohrläppchen zu dünn oder durch krankhafte Veränderungen, etwa ein Erysipel oder Ekzem, unbrauchbar ist. Hat man einmal vergleichende Untersuchungen von verschiedenen Körperstellen zu machen, so kann man das Ohrläppchen und einen Finger und auch ein Zehenendglied zur Blutentnahme benützen.

Zur Erzeugung der Wunde empfiehlt sich am wenigsten eine Nadel, weil sie eine zu kleine Wunde setzt; etwas besser

ist eine Stahlfeder nach Entfernung der einen Spitze. Besonders aber empfehlen sich lanzettenartige Instrumente, von deren verschiedenen gangbaren Sorten ich Ihnen am meisten die kleine „Blutlanzette“ *), die Sie hier sehen, empfehlen kann. Das ganze Ding ist 6 cm lang, kann also bequem in der Westentasche getragen werden, und besteht aus einem metallenen Griff, in den eine lanzenartige Spitze mit schneidenden Seitenrändern eingefügt ist. Über diese Lanzette ist an den Griff eine Metallhülse aufzuschrauben in der Art, daß sie, wenig angeschraubt, die Lanzette vollständig deckt und schützt, stärker aufgeschraubt aber ihre Spitze frei werden läßt. So dient die Hülse einerseits als Schutz für die Spitze, andererseits als Vorrichtung, um die Tiefe

Blutlanzette.

Fig. 1.



Blutlanzette.

des zu machenden Einstiches vorauszubestimmen. In neuerer Zeit wird das Instrument noch mit einer zweiten, vorne geschlossenen Schutzhülse, welche über die erste geschoben werden kann, geliefert. Das Instrument ist durchwegs aus vernickeltem Stahl, ungemein leicht zu reinigen, und genügt allen berechtigten Anforderungen so vollkommen, daß kompliziertere Stechapparate mit vorschnellbaren Spitzen, die nur teurer und leichter zu verderben sind (z. B. der von Laker oder Franke), vollkommen entbehrlich sind. Durch den Stich der Lanzette erzeugt man eine etwa 3 mm lange Schnittwunde, die einerseits genug Blut liefert, andererseits rasch wieder zuheilt.

Reinigung der Stichstelle und der Lanzette.

Zur Reinigung des Ohrläppchens verwende ich ausschließlich Schwefeläther; ein Bausch Brunsscher Watte wird damit getränkt und das Ohrläppchen ein wenig gerieben; der Äther verdunstet sofort und die für einen Augenblick erzeugte stärkere

*) Erhältlich bei Reiner oder Hayek, Wien, IX/3.

Durchblutung des Läppchens ist rasch wieder verflogen. Anwendung von Seife, Sublimat oder Alkohol ist unnütz. Ebenso reinige ich die Lanzette nur mit Äther. Man wird höchstens, wenn man eine Untersuchung bei einer besonders infektiösen Allgemeinerkrankung vorgenommen hat, die Lanzette gleich danach mit Sublimat oder einem anderen Desinfiziens behandeln, sonst aber kann man auch dies entbehren und es genügt die einfache mechanische Reinigung. Ich habe seit Jahren unzählige Blutuntersuchungen gemacht und auch nicht einmal nur die geringste Reaktion an der Wundstelle gesehen, obwohl ich Erysipel, Sepsis, Malaria, Typhus, Lues usw. durcheinander untersuchte. Wenn man einen Finger oder eine Zehe zur Blutentnahme verwendet, so ist eine vorhergehende Seifenreinigung notwendig.

Ist die Blutentnahme abgeschlossen, so genügt es unter gewöhnlichen Umständen, wenn man das Ohrläppchen ganz leise ohne jeden Druck mit dem Tuche reinigt und den Kranken anweist, nicht daran zu drücken, um die kleine Blutung sofort zu stillen. Nur bei besonderer Hyperämie und bei hämorrhagischer Diathese ist es notwendig, längere Zeit zu komprimieren oder die Wunde mit Kollodium oder Heftpflaster zu verschließen.

Für chemische oder bakteriologische Blutuntersuchungen, für die mehrere Kubikzentimeter Blut erforderlich sind, empfiehlt sich die Anwendung einer Venenpunktion, eines Eingriffes, der durchaus unschädlich ist und, wenn man ihn nur einmal gemacht hat, bei genügender Weite und oberflächlicher Lagerung der Venen immer wieder leicht getroffen wird. Ich verwende hiezu, ebenso wie Grawitz, Instrumente, welche ganz gleich sind den dünneren Nadeln des Quinckeschen Lumbalpunktionsbesteckes. Es sind spitze Hohlnadeln von fast 2 mm äußerem Durchmesser, mit einem ihre Höhlung genau ausfüllenden, entfernbaren Stachel, in deren äußeres Ende nach Entfernung des Stachels ein birnförmiges Metallansatzstück für einen Schlauch eingeschoben werden kann, so daß man die Nadeln auch zum Aderlaß oder zur intravenösen Infusion verwenden kann. Im Notfalle reicht jede etwas weitere Pravazsche Nadel hin, um einige Kubikzentimeter Blut zu bekommen; mit der dickeren beschriebenen Nadel kann man 2—400 cm³ Blut ohneweiters entleeren.

Venenpunktion.

Zur Venenpunktion wird irgendeine oberflächliche Vene des Vorderarmes, am besten in der Gegend der Ellenbeuge, gewählt. Die Nadel wird ausgekocht oder in trockener Hitze sterilisiert, der

Arm mit allen von der Chirurgie zur Erreichung der Asepsis geforderten Vorsichtsmaßregeln gereinigt. Am Oberarm läßt man durch einen Gehilfen die oberflächlichen Venen komprimieren oder man legt eine Esmarchsche Binde oder einen gewöhnlichen Gummischlauch in der Weise an, daß das Blut in den Venen ohne Behinderung der arteriellen Zufuhr gestaut wird. Nun geht man nach Entfernung des Stachels unter Anspannung der Haut und entsprechender Fixierung der Vene mit der Hohlnadel direkt auf das gewählte Gefäß ein, indem man die Nadel schräge in der Längsrichtung der Vene und genau ihrer Mitte entsprechend durch die Haut und vorsichtig durch die Venenwand einschiebt. Am meisten empfiehlt es sich natürlich, die Nadel entgegen dem Blutstrom, also gegen die Peripherie der Extremität hin einzuführen; macht dies aber Unbequemlichkeiten, so kann man die Nadel auch ohneweiters in der Richtung des Blutstromes einführen. Hat man die genügende Menge Blut erhalten, so entfernt man unter gleichzeitiger Lösung der Umschnürung am Oberarme und unter Kompression der Punktionsstelle die Nadel. Die Stichöffnung wird mit Kollodium geschlossen und durch ein kleines Pflaster geschützt.

Fig. 2.

Venenpunktionsnadel mit Schlauchansatz.

Besonders für die bakteriologische Untersuchung ist unbedingt die Venenpunktion zu wählen, weil diese Methode der Blutentnahme die weitaus sicherste Gewähr für durchaus steriles Arbeiten gibt. Man läßt dann das Blut direkt aus der Hohlnadel in sterile Bouillon tropfen, etwa 20 Tropfen auf eine Eprouvette,

und kann diese Mischung hernach zum Plattenkulturverfahren weiter verwenden. Es ist für bakteriologische Untersuchungen durchaus notwendig, in dieser Weise vorzugehen, da die Untersuchung einzelner etwa dem Ohrläppchen entnommener Bluttropfen auf Bakterien fast stets ein negatives Ergebnis liefert, auch dort, wo die ordentliche Untersuchung des Venenblutes positiv ausfällt.

Von diesen letzteren Fällen abgesehen, werden Sie kaum in die Lage kommen, für gewöhnliche klinische Untersuchungen Venenblut zu verwenden. Es würde sich dies auch gar nicht empfehlen, es wäre denn, daß man es immer täte, was sich eben aus äußeren Gründen nicht durchführen läßt. Es ist immerhin möglich, ja in einem gewissen Grade als sicher anzunehmen, daß arterielles, venöses und „Kapillar"-Blut nicht immer ganz ideal die gleiche Zusammensetzung haben. Und eben weil wir hierüber noch keine allgemein gültigen Erfahrungen besitzen, empfiehlt es sich unbedingt, immer nur gleiche Arten miteinander zu vergleichen, für unsere Zwecke also das sogenannte Kapillarblut aus den durch einen Einstich verletzten kleinsten Gefäßchen.

Inspektion des Bluttropfens.

Nun muß ich Ihnen gleich empfehlen, schon bei der Blutentnahme sich den vorquellenden Bluttropfen genau zu besehen, noch ehe Sie die Apparate in Tätigkeit setzen. Sie können durch die bloße Besichtigung des Bluttropfens schon manchen schätzenswerten Schluß auf die Verhältnisse des Blutes selbst ziehen.

Normales Blut enthält mehr als 5,000.000 Zellen im Kubikmillimeter, es ist also ein dickflüssiger Saft, der auf der horizontal gestellten Fläche des Ohrläppchens einen sehr großen runden Tropfen bildet, ehe er auseinanderfließt, vorausgesetzt, daß die Haut vollkommen trocken ist. Bei großer Zellverarmung des Blutes, welche dazu ganz regelmäßig auch noch mit einer Wasserzunahme einhergeht, ist das ganz anders; da zerfließt der Tropfen ungemein leicht und rasch und sieht geradezu wässerig aus. Schon diese einfache Beobachtung ist nicht zu unterschätzen.

Noch wichtiger als „Dickflüssigkeit" und Viskosität des Blutes ist aber die makroskopische Beurteilung der Farbe. Hier können wir zweierlei leicht unterscheiden: den Farbenton und die Färbungsstärke.

Cyanose.

Ist das Blut in abnormer Weise an Sauerstoff verarmt, mit gasfreiem Hämoglobin also in ungewöhnlichem Grade überladen, so äußert sich das wegen der düsteren, etwas violettroten Farbe

des gasfreien Hämoglobins in einer eigenartig dunklen, schwärzlichroten, „cyanotischen“ Färbung des Bluttropfens. Sie können die Cyanose zwar dann meistens schon an den Schleimhäuten sehen, besser jedoch oftmals am Blute, weil die Cyanose der äußeren Decke durch Gefäßenge leicht zum Verschwinden gebracht oder doch undeutlich gemacht wird. Auch im Blute selbst verschwindet allerdings der cyanotische Ton, wenn der Farbstoffgehalt im ganzen gar zu gering wird.

Andere Farbentöne des Blutes werden erzeugt durch den Gehalt an Methämoglobin oder Kohlenoxydhämoglobin. Im ersteren Falle erscheint, sobald die Menge des Methämoglobins groß genug ist, das Blut zunächst bläunlichrot und bei noch höherem Gehalt direkt sepia- oder schokoladebraun. Bei ausgiebigem Gehalte an Kohlenoxydhämoglobin ist das Blut mehr oder weniger deutlich hellkirschrot. Beide Vorkommnisse haben eine hohe praktische Bedeutung; es ist daher nicht zu unterschätzen, wenn man schon durch die bloße Besichtigung des Bluttropfens auf eine solche Möglichkeit aufmerksam gemacht wird. Die Sicherstellung des Gehaltes an abnormen Bindungen des Hämoglobins wird allerdings erst durch die

spektroskopische Untersuchung

erfolgen können.

Methämoglobin.

Das Methämoglobin, welches die gleiche Menge Sauerstoff, aber in einer anderen Anlagerung und festeren Bindung als das Oxyhämoglobin enthält, derart, daß ihm der Sauerstoff nicht mehr unter der Einwirkung der Luftpumpe und nicht mehr durch die lebenden Gewebe entzogen werden kann, entsteht im Körper durch Einwirkung verschiedener schwerer Gifte, welche entweder imstande sind, das Oxyhämoglobin schon in den roten Blutkörperchen in Methämoglobin zu verwandeln, oder aber die roten Blutkörperchen auflösen und die Umwandlung des Oxyhämoglobins in Methämoglobin erst in der Lösung vollziehen. Praktisch kommen hiebei in Betracht zunächst das chlorsaure Kali, dann Amylnitrit und Natrium nitrosum, Arsenwasserstoff, Anilin, Nitrobenzol, Phenacetin, Antifebrin und Kairin, sowie das Gift der frischen oder getrockneten, aber nicht gekochten Lorchel.

CO-Hämoglobin.

Das Kohlenoxydhämoglobin (CO-Hämoglobin) entsteht bei der Vergiftung mit Kohlendunst oder mit Leucht- oder mit Wassergas. Nach neueren Untersuchungen sollen übrigens

das „Kohlendunst“- und das „Leuchtgas“-Hämoglobin nicht vollkommen identische Verbindungen sein; die feinen Unterschiede bleiben jedoch für den Praktiker völlig belanglos.

Methämoglobin wird durch Sodalösungen sehr leicht in eine schön rot gefärbte Modifikation, das sogenannte alkalische Methämoglobin, umgewandelt, was deshalb wichtig erscheint, weil erstens unter solchen Umständen die Farbe nicht mehr charakteristisch ist, zweitens weil das charakteristische Spektrum verschwindet und endlich drittens auch therapeutisch wichtig deshalb, weil das alkalische Methämoglobin durch die Tätigkeit der Leber leicht wieder in Hämoglobin und Oxyhämoglobin übergeführt wird; es ist daher weniger gefährlich als das gewöhnliche Methämoglobin (Kobert). Das CO-Hämoglobin geht durch Einwirkung der Luft sehr rasch wieder zum größten Teile oder vollständig in Oxyhämoglobin über, was bei der Untersuchung auf Kohlenoxydvergiftung jedesmal berücksichtigt werden muß, um so mehr, als ja immer auch noch reichlich Oxyhämoglobin im strömenden Blute vorhanden ist.

Der spektroskopische Nachweis der verschiedenen Hämoglobinverbindungen erfordert keine großen Apparate. Wenige Tropfen Blut auf eine Eprouvette destillierten Wassers geben eine genug konzentrierte Lösung, die in der Eprouvette oder in einem kleinen Glasgefäße mit planparallelen Wänden mittels eines der gebräuchlichen Taschenspektroskope von Zeiß oder Browning untersucht werden kann.

Spektra des Oxy- und gasfreien Hämoglobins.

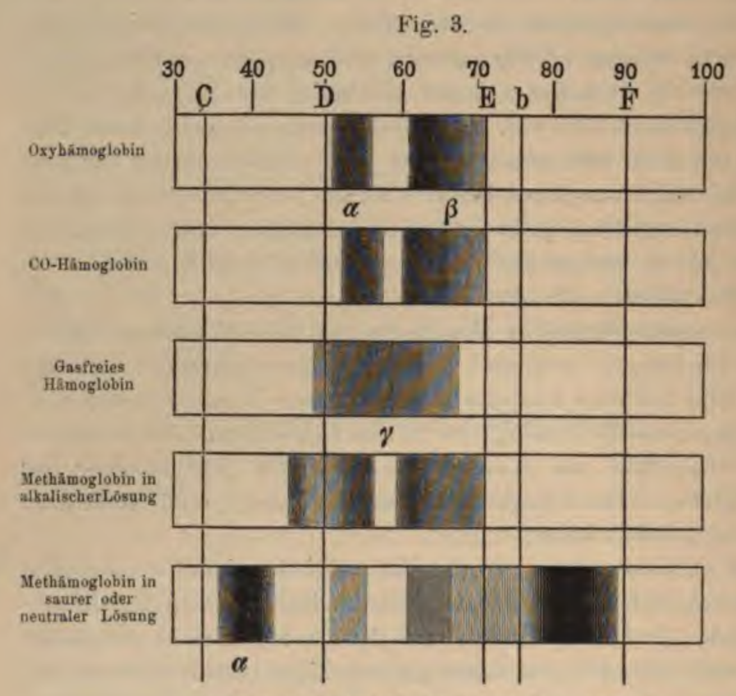
Das Oxyhämoglobin zeigt seine zwei allbekannten scharfen Absorptionsstreifen im Gelb und Grün zwischen den Frauenhoferschen Linien D und E, welche auf Zusatz von gelbem Schwefelammon verschwinden und unter gleichzeitiger Dunklerfärbung der ganzen Lösung dem breiteren, schwächeren, unscharf abgegrenzten einfachen Absorptionsstreifen des gasfreien Hämoglobins platzmachen, welcher ungefähr den ganzen Raum zwischen D und E einnimmt. Im cyanotischen Blut ist niemals, auch wenn man es noch so sorgfältig vor Luftzutritt schützt, allein der Streifen des gasfreien Hämoglobins zu sehen; im Gegenteil, mit den kleinen Taschenspektroskopen sieht man immer wieder nur die vielleicht etwas unschärferen Streifen des Oxyhämoglobins, und nur mit großen Spektralapparaten kann man gelegentlich eine Verdüsterung des hellen Feldes zwischen ihnen wahrnehmen. Sobald solches Blut nur einigermaßen mit Luft in Berührung gekommen

ist, wird seine Farbe wieder heller, und das gasfreie Hämoglobin verschwindet völlig aus ihm.

chweis des CO-Hämoglobins.

Das CO-Hämoglobin besitzt ein Spektrum, welches dem des Oxyhämoglobins außerordentlich ähnlich ist und mit dem kleinen Spektroskope von diesem tatsächlich nicht unterschieden werden kann; nur große Spektralapparate lassen erkennen, daß der erste (im Gelb gelegene) Absorptionsstreif etwas mehr nach rechts (gegen E zu) gerückt ist, und daß der helle Zwischenraum

Fig. 3.



Spektra des Blutfarbstoffes (nach Löbisch).

zwischen beiden Streifen ein schmälerer ist. Ein halbwegs verläßliches Kriterium für CO-Hämoglobin ist jedoch darin gelegen, daß dasselbe durch Zusatz von Schwefelammonium nicht in gasfreies Hämoglobin umgewandelt wird, sondern unverändert bestehen bleibt. Allerdings wird auch diese Probe in ihrer praktischen Ausführung dadurch getrübt, daß niemals reines CO-Hämoglobin vorhanden ist, sondern stets auch Oxyhämoglobin daneben. Unter solchen Umständen wird sich das spektroskopische Bild bei Zusatz von Schwefelammon derart gestalten, daß die

beiden Streifen im Gelb und Grün bestehen bleiben, aber durch eine Verdüsterung des hellen Zwischenraumes miteinander verbunden werden. In solchen Fällen kann man zur völligen Klarstellung noch einige chemische Reaktionen anstellen. Hoppe-Seyler empfiehlt die folgende: Man versetzt die Blutlösung mit 10% Natronlauge und erwärmt. CO-Hämoglobin wird hiebei zinnoberrot, die Oxyhämoglobinlösung trübt sich und wird schmutzigbraungrün. Oder aber: Man versetzt die Blutlösung mit einer oxydierenden Substanz, z. B. chlorsaurem Kalium (5%) oder Chlorwasser. CO-Hämoglobinlösungen bleiben dabei unverändert, während die Oxyhämoglobinlösung sich blaßgelb verfärbt.

Das Methämoglobin zeigt in der fast neutralen Lösung, welche eine so starke Blutverdünnung mit destilliertem Wasser darstellt, wie sie zur spektroskopischen Untersuchung verwendet wird, vor allem einen sehr charakteristischen, starken und scharf abgegrenzten Absorptionsstreifen im Orange zwischen C und D, näher der ersteren Linie; außerdem bestehen noch drei unscharfe Streifen im Gelb, Grün und Blau, welche mit den kleinen Spektralapparaten zumindest nicht deutlich, oft gar nicht gesehen werden können. Der letzte im Blau, der von ihnen noch am besten hervortritt, entspricht annähernd dem Urobilinstreifen. Verlassen kann man sich aber nur auf den ersten Streifen im Orange. Nachweis des Methämoglobins.

Das alkalische Methämoglobin (Sodazusatz s. o.) zeigt diesen Streifen überhaupt nicht, dagegen blauwärts hievon drei Absorptionsstreifen, von denen die ersten zwei im Gelb zu beiden Seiten der Linie D liegen, während der dritte dem rechts gelegenen Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins entspricht. Setzt man einer Lösung des gewöhnlichen Methämoglobins sehr vorsichtig und tropfenweise verdünntes Schwefelammonium zu, so geht sein Spektrum zunächst in das des Oxyhämoglobins und dann in jenes des gasfreien Hämoglobins über.

Weitergehende Veränderungen des Blutfarbstoffes kommen im zirkulierenden Blute wohl nicht vor; ich gehe daher auf deren Eigenschaften und spektralanalytische Beobachtung und Unterscheidung gar nicht ein.

Hämometrie.

In zweiter Linie kann man, wie oben gesagt, durch Besichtigung des frischen Bluttropfens bis zu einem gewissen Grade ein

schätzungsweises Urteil abgeben über den Farbstoffgehalt des Blutes, d. i. über die in der Raumeinheit enthaltene absolute Hämoglobinmenge. Das normale Blut des erwachsenen Menschen hat im Mittel einen Hämoglobingehalt von etwa 14 g auf 100 cm³. In den ersten Lebenswochen des Kindes ist der Hämoglobingehalt erhöht und beträgt nach Leichtenstern 15—21 g; die höchsten Werte zeigen dabei die ersten Lebenstage. Während des Kindesalters stehen die Zahlen sodann bis etwa zur Pubertät etwas niedriger, bei 11—12,0 g, um vom 20. Lebensjahre an innerhalb verhältnismäßig enger Grenzen, nämlich zwischen 12,5 und 15,0 g zu schwanken. Im allgemeinen scheinen innerhalb dieser Grenzen die niedrigeren Werte öfter beim weiblichen, die höheren Werte öfter beim männlichen Geschlechte vorzukommen. „Vollblütige" gesunde Menschen haben nicht selten auch einen höheren Hämoglobinwert, etwa bis 15 g oder wenig darüber. Hervorzuheben ist auch, daß nach verschiedenen Beobachtungen bei länger andauerndem Aufenthalt im Höhenklima der Hämoglobingehalt in demselben Verhältnisse wie die Zahl der Erythrozyten, also manchmal um ein ganz Beträchtliches, zunimmt.

Auf der anderen Seite sind durchaus nicht alle Menschen, welche blaß aussehen, auch wirklich „blutarm" oder anämisch. Die Gesichtsfarbe hängt nicht nur von dem Farbstoffgehalte des Blutes ab, sondern zu einem sehr wesentlichen Teile von der Zartheit und Durchsichtigkeit der Haut und von der oberflächlichen Lagerung und Weite der Gefäße. Ich kann nicht genug betonen, daß mit dem Worte blutarm in der Praxis nicht nur von seiten der Laien, sondern leider auch ärztlicherseits ein großer Mißbrauch getrieben wird. Wenn ein Neuropathikus und noch häufiger eine Neuropathika ein blasses Gesichtlein zur Schau trägt, gleich ist eine Mehrzahl von Ärzten bereit, eine Blutarmut zu diagnostizieren, derselben alle möglichen Beschwerden in die Schuhe zu schieben, und die Armen mit Eisenpräparaten in aller möglichen Form zu füttern, bis ihnen alles zum Ekel wird. Natürlich mit dem ausgesprochensten Mißerfolge, da diese Kranken enge oder kontrahierte Hautgefäße und deshalb eine blasse Gesichtsfarbe, niemals aber eine Anämie gehabt haben. Auch bei Fällen initialer Phthise findet sich oft ein ähnliches Bild und wird der gleiche Irrtum oft begangen.

Schätzung des Hämoglobins durch Inspektion.

Ein einziger Stich ins Ohrläppchen und die einfache Besichtigung eines oder einiger Bluttropfen allein könnte schon die

meisten dieser Irrtümer verhindern; aber man tut nicht einmal dieses Allermindeste, entweder weil man verächtlich meint, eine Anämie könne man auch ohne Blutuntersuchung erkennen, oder aber weil man glaubt, auf kostspielige Apparate angewiesen zu sein, über die man nicht verfügt. Es ist selbstverständlich, daß man durch die bloße Besichtigung des Bluttropfens kein genaues Urteil über den Hämoglobingehalt wird abgeben können, aber man kann eine Schätzung machen, die bei einiger Erfahrung nicht gar zu unsicher ausfällt. Wesentlich gefördert wird die Genauigkeit einer solchen Schätzung dadurch, daß man den Bluttropfen mit einem Filtrierpapier oder einem Leinentuch von annähernd immer gleich bleibender Stärke und Webung aufsaugt. Wenn man einige Übung hat, die man allerdings nur durch wiederholte Vergleiche mit Resultaten instrumenteller Hämoglobinbestimmung gewinnen kann, ist man meistens durch diese „Handtuchprobe", wie man das auch nennt, imstande, recht brauchbare Schätzungen zu erzielen. Ich habe es z. B. zuwege gebracht, daß meine im voraus bei der Blutentnahme mittels der Handtuchprobe gemachten Schätzungen nur sehr selten von den Resultaten der unmittelbar angeschlossenen Bestimmung mit dem Fleischlschen Hämometer um mehr als 5% abwichen. Dazu gehört allerdings eine andauernde Beschäftigung mit solchen Dingen, welche der Praktiker nicht haben kann. Aber so genaue Schätzungen verlangt man auch nicht; daß das Blut annähernd normal gefärbt ist, daß es deutlich blässer, daß es sehr blaß ist, kann jeder in sehr kurzer Zeit beurteilen, und für den Notfall ist auch das schon ein Nutzen. Handtuchprobe.

Um dieser denkbar einfachsten Hämoglobinschätzung auch für den Mindergeübten eine halbwegs sichere Grundlage zu geben, hat Tallquist seine für den anspruchslosen Praktiker — aber auch nur für diesen — ganz brauchbare Hämoglobinskala in den Handel gebracht. Es ist dies ein handliches, gut in der Rocktasche unterzubringendes Büchlein, aus lauter abgeteilten Filtrierpapierblättchen bestehend, dem auf der letzten Seite eine Tafel mit roten Streifen verschiedener Färbungsstärke beigegeben ist. Diese Farben geben mit möglichster Genauigkeit (völlige Übereinstimmung ist wohl kaum zu erreichen!) den Farbenton eines eben antrocknenden Bluttropfens von verschiedenem Hämoglobingehalte wieder. Es sind im ganzen zehn derartige Farbenbänder untereinander angebracht, derart, daß das dunkelste, Tallquists Hämoglobinskala.

mit „100%“ bezeichnete, dem normalen Hämoglobingehalte des Blutes entspricht, während jedes folgende um 10% weniger anzeigt, also 90, 80, 70 . . . . bis 10% des normalen Hämoglobingehaltes entsprechen soll. Man geht in der Weise vor, daß man einen großen Bluttropfen in eines der abgelösten Filtrierpapierblättchen einsaugt und den dadurch entstandenen Blutfleck nun, sobald er eben eingetrocknet ist, mit der beigegebenen Farbenskala vergleicht. Zu diesem Zwecke ist bei den neueren Skalen in jedem Farbenbande ein kreisrunder Ausschnitt. Man legt das benetzte Filtrierpapier unter die Skala derart, daß der Blutfleck gerade in diesen Ausschnitt fällt, und hat so die Möglichkeit des unmittelbarsten Vergleiches zwischen der Färbung des Blutfleckes und des betreffenden Farbenbandes. Durch Vergleich läßt sich dann annähernd ermitteln, ob die Färbung des Fleckes mit der Farbe eines der Skalenteile übereinstimmt oder aber zwischen zweien gelegen ist. So kann man immerhin zu einem annähernd innerhalb der Grenze von 10% richtigen Vergleichswerte kommen. Absolute Werte von Hämoglobin damit bestimmen zu wollen wird sich wohl niemand vermessen, und auch die Vergleichswerte können nur recht bescheidene Ansprüche des praktischen Arztes befriedigen.

Für wissenschaftliche und klinische Zwecke ist allerdings eine mehr Sicherheit bietende Hämoglobinbestimmung zu fordern. Es ist einmal nicht zu leugnen, daß der Beurteilung des Hämoglobingehaltes eine große Bedeutung für die Beurteilung des Blutbefundes im ganzen innewohnt, wenn auch die einstmalige Übung, unter Blutuntersuchung eben nur eine mehr minder verläßliche Hämoglobinbestimmung zu verstehen, längst schon veraltet ist. An und für sich ist ja allerdings das Ergebnis einer Hämoglobinbestimmung in hohem Grade vieldeutig und, weil eine Verminderung des Hämoglobingehaltes eben bei so vielen und ganz verschiedenen Anlässen zustande kommt, auch oftmals nicht von besonderem Werte. Dazu kommt noch, daß die gleich später zu besprechenden, in der Klinik gebräuchlichen und brauchbaren Methoden keine besonders verläßlichen Werte für den absoluten Hämoglobingehalt des Blutes zu geben vermögen, und daß sie, da sie durchwegs auf kolorimetrischer Vergleichung beruhen, in einem merklichen Grade von unbestimmbaren Nebenumständen und Zufälligkeiten abhängen.

Trotzdem ist es meines Erachtens durchaus unberechtigt, der klinischen Hämometrie mit verächtlichem Achselzucken jeden praktischen Wert abzusprechen, wie es Biernacki einmal getan hat. Wir wissen recht gut, daß wir mit Fehlern arbeiten, und daß wir nur dann brauchbare Werte bekommen, wenn wir immer mit gleicher Exaktheit und Sorgfalt vorgehen. Aber die Fehler bleiben in allen wesentlichen Punkten immer annähernd die gleichen, und daher sind auch die einzelnen Werte untereinander im allgemeinen relativ richtig und gut miteinander vergleichbar; und das ist es, worauf es dem Praktiker und zumeist auch dem Kliniker ankommt. Wo der letztere wissenschaftliche Zwecke verfolgt, wird er sich allerdings auf die relativ besten für ihn durchführbaren Methoden beschränken müssen.

Die ohne Zweifel verläßlichsten Methoden sind nun allerdings so schwierig und zeitraubend, daß sie auch in der Klinik für den allgemeineren Gebrauch nicht in Betracht kommen.

Als beste und genaueste Methode ist wohl die von Vierordt eingeführte und von Hüfner ausgestaltete Spektrophotometrie anzuerkennen und an erster Stelle zu nennen. Hüfners Spektrophotometer.

Das Prinzip dieser Methode ist folgendes: Der vertikal gestellte Spalt eines großen Spektralapparates ist von den scharfen Schneiden zweier Schieber gebildet, deren jeder durch eine eigene Mikrometerschraube derart seitlich verschoben werden kann, daß eine symmetrische Verbreiterung des Spaltes möglich ist. Die Weite desselben ist nach einer Gradeinteilung an der Mikrometerschraube zu bestimmen: ein Teilstrich der dort angebrachten Skala entspricht einer Bewegung um $^1/_{400}$ mm. Vor dem Spalte ist der sogenannte „Albrechtsche Glaskörper", und vor diesem, entsprechend der unteren Spalthälfte, der „polarisierende" Nicol, der oberen Spalthälfte entsprechend ein Rauchglaskeil angebracht. Durch diese Vorrichtungen wird das Spektrum in zwei gleich breite übereinander gelegene Hälften geteilt, deren Lichtstärke durch seitliche Verschiebung des Rauchglaskeiles völlig gleich gemacht werden kann. Im Fernrohre, also zwischen dem dispergierenden Prisma und dem Beobachter, befinden sich: 1. Ein zweiter Nicol, der „analysierende", der mit Hilfe einer über einem Teilkreise spielenden zweiarmigen Alhidade gedreht werden kann; 2. eine aus zwei Schiebern zusammengesetzte Abblendevorrichtung, welche den Zweck hat, bis auf eine ganz schmale Zone

das ganze Spektrum zu verdecken; 3. eine Vorrichtung mit Teilkreissektor und Alhidade zur Orientierung im Spektrum, so daß man schmale Bezirke von Strahlen bekannter Wellenlänge ins Gesichtsfeld einstellen kann.

Das unmittelbar vor den polarisierenden Nicol zu bringende „Absorptionskästchen" ist durch ein genau bis zur Hälfte seiner Höhe reichendes Glasprisma derart geteilt, daß in der oberen Hälfte zwischen den planparallelen Wänden ein querer Raum von 11 mm, in der unteren Hälfte aber nur einer von 1 mm besteht. Als Lichtquelle dient ein Petroleumbrenner. Der Apparat muß in einer Dunkelkammer unter Beobachtung sehr peinlicher Vorschriften aufgestellt sein.

Zur Vornahme einer Bestimmung wird das Absorptionskästchen mit einer Blutlösung gefüllt, welche man sich durch Verdünnung von 1 cm^3 defibrinierten Blutes auf 150—160 cm^3 mit $^1/_{10}$% Sodalösung hergestellt hat. Vor die obere Hälfte des Spaltes wird hiedurch eine 11 mm, vor die untere eine 1 mm dicke Schichte der Blutlösung gebracht. Im Apparate erscheint jetzt die obere Hälfte des eingestellten Spektralabschnittes dunkler als die untere. Mit Hilfe der zweiarmigen Alhidade wird dann der analysierende Nicol so lange gedreht, bis die dadurch bewirkte Verdunklung der unteren Hälfte des Spektralausschnittes genau den gleichen Grad erreicht hat, wie die durch eine 1 cm dicke Blutlösungsschichte hervorgerufene Verdunklung der oberen Hälfte. Am Nonius des Teilkreises liest man den Drehungswinkel des Nicols ab, notiert ihn und kontrolliert die Richtigkeit des Wertes durch weitere neun Einstellungen. Daraus gewinnt man den Mittelwert des Drehungswinkels (φ).

Für jede Oxyhämoglobinbestimmung werden zwei verschiedene Stellen des Spektrums nacheinander zur Untersuchung herangezogen: Die Mitte zwischen den beiden Absorptionsstreifen und die dunkelste Partie des breiteren, im Grün gelegenen Streifens.

Die Berechnung geschieht sodann in folgender Weise: Wenn man die ursprüngliche L i c h t s t ä r k e vor Einschaltung der Blutlösung mit 1 bezeichnet, so ist die Lichtstärke J_1, welche nach Einschaltung der Blutlösung und Gleichstellung der Helligkeit beider Spalthälften mit Hilfe des analysierenden Nicols übrig bleibt, aus dem Drehungswinkel φ dieses nach der Formel zu berechnen:

$$J_1 = \cos^2 \varphi$$
$$\log J_1 = 2 . \log \cos \varphi.$$

Der negative Logarithmus des Wertes der übrig gebliebenen Lichtstärke gibt den Extinktionskoeffizienten ε. Die Extinktionskoeffizienten verschieden konzentrierter Lösungen derselben Substanz für eine und dieselbe Spektralregion sind proportional der Konzentration c der Lösung. Der Wert $\frac{c}{\varepsilon}$ ist also eine konstante Größe; man bezeichnet ihn als Absorptionsverhältnis (A). Diese Konstante ist für eine bestimmte Substanz, in unserem Falle also für Menschen-Oxyhämoglobin, ein für allemal für die beiden in Betracht kommenden Spektralbezirke im voraus zu bestimmen.

Aus den bisher gewonnenen Werten kann man sich dann jederzeit die Konzentration der untersuchten Lösung berechnen. Denn:

$$A = \frac{c}{\varepsilon}, \text{ daher } c = A . \varepsilon.$$

Auch das Verhältnis der Extinktionskoeffizienten für die beiden zur Oxyhämoglobinbestimmung verwendeten Spektralbezirke ($\varepsilon_1 : \varepsilon$) ist eine konstante Größe; für Menschenblut beträgt $\frac{\varepsilon_1}{\varepsilon} = 1{,}557$, wobei ε_1 der Extinktionskoeffizient des Streifens in Grün ist.

So richtig und so genau die auf diesem Wege erhaltenen Werte auch sein mögen, so wenig ist diese Methode für die Klinik und Praxis zu brauchen. Erstens ist der Apparat sehr kostspielig, zweitens ist er sehr empfindlich und darf einer allgemeineren Benützung kaum überlassen werden, und drittens muß jeder, der eine auf Richtigkeit Anspruch machende Bestimmung durchführen will, sich erst durch längere Zeit in den Gebrauch dieses Apparates einarbeiten. Alles in allem Anforderungen, welche weder die Praxis, noch auch im allgemeinen die Klinik erfüllen kann.

An zweiter Stelle wären diejenigen Methoden zu nennen, bei welchen die zu untersuchende Blutlösung mit einer wirklichen Hämoglobinlösung bekannter Konzentration verglichen wird. Hieher gehört vor allem die Methode von Hoppe-Seyler mittels der „kolorimetrischen Doppelpipette". Als Vergleichsflüssigkeit dient eine CO-Hämoglobinlösung bekannter

Hoppe-Seylers Doppelpipette

Konzentration. Es wird nun eine geringe Menge Blut abgemessen, in Wasser gelöst und hierauf wird durch Einleitung von Kohlenoxydgas oder Leuchtgas das darin enthaltene Hämoglobin in seiner Gänze in CO-Hämoglobin verwandelt. In parallelwandigen Gefäßchen werden dann die beiden Lösungen miteinander verglichen, und man setzt der zu prüfenden Blutlösung so lange mit Kohlenoxyd gesättigtes Wasser zu, bis der Farbenton beider Lösungen der gleiche ist. Aus der Menge des zugesetzten Wassers wird der Hämoglobingehalt in Gramm auf 100 cm^3 Blut berechnet. Auch diese Methode, die ebenfalls sehr genaue Resultate zu liefern vermag, ist deshalb für die Klinik nicht gut verwertbar, weil ihre Durchführung zu mühsam ist und zuviel Zeit in Anspruch nimmt.

Eine ganz ähnliche Methode rührt von Nebeltau her. Endlich ist auch eine Methode von Zangemeister angegeben, nach welcher das Hämoglobin in Methämoglobin übergeführt und mit einer Methämoglobinlösung bekannter Zusammensetzung verglichen wird. Keine dieser Methoden hat sich in der Klinik oder in der Praxis einzubürgern vermocht.

Indirekte kolorimetrische Methoden.

Neben diesen direkten kolorimetrischen Methoden bleiben uns schließlich nur mehr die indirekten für den klinischen Gebrauch übrig, welche auf dem Vergleiche einer Blutlösung mit einem anderen dem Blute annähernd gleich gefärbten Medium beruhen. Hier sind wieder zwei Prinzipien möglich. Entweder haben wir ein fixes, unveränderliches Vergleichsmedium und wir passen die Blutlösung durch fortlaufende Verdünnung der Farbe dieses Vergleichsmediums an, oder wir haben eine fixe Blutlösung von bekanntem Gehalte und vergleichen damit Vergleichsmedien verschiedener Färbungsstärke. Beide Prinzipien finden wir in den zwei dermalen am meisten, ja geradezu ausschließlich in Klinik und Praxis gebräuchlichen Apparaten für Hämoglobinbestimmung vertreten, den ersten Grundsatz in dem Hämoglobinometer von Gowers, den zweiten in dem Hämometer von Fleischl und in der von Miescher herrührenden Umgestaltung desselben.

Es ist von vorneherein klar, daß diese indirekten Methoden der Hämoglobinbestimmung größere Fehlerquellen haben müssen als die direkten. Denn es müssen für eine hinreichende Genauigkeit zwei Bedingungen erfüllt sein: Erstens muß es gelingen,

Vergleichsmedien von möglichst vollkommener Übereinstimmung im Farbentone mit den zu untersuchenden Blutlösungen herzustellen, und zweitens muß die Eichung dieser Vergleichsmedien eine exakte und peinlich genaue sein. In beiden Punkten aber machen sich beträchtliche Schwierigkeiten geltend, von denen ich aber lieber später im Anschluß an die Besprechung der Apparate reden will. Wir dürfen uns also keinen Illusionen über die Genauigkeit der durch diese Untersuchungsmethoden gefundenen absoluten Hämoglobinwerte hingeben; sie ist recht gering, und es ist schwer zu erreichen, daß zwei Instrumente derselben Art ganz genau miteinander übereinstimmen. Trotzdem sind die Methoden für den Praktiker zu brauchen und vorläufig, bis uns bessere Methoden von praktischer Brauchbarkeit beschert werden, nicht zu umgehen. Wenn wir peinlich mit ihnen arbeiten, haben wir wenigstens die eine Beruhigung, daß wir immer annähernd mit den gleichen Fehlern rechnen, daß also die einzelnen mit demselben Instrumente erhaltenen Zahlen untereinander gut vergleichbar sind, wenn auch der absolute Wert nur ganz annähernd das Richtige trifft. Wir bekommen brauchbare Vergleichswerte, und das ist es ja auch, wie ich oben sagte, was der Praktiker braucht und was dem Kliniker zumeist ebenfalls genügt, wenn nur dabei die absoluten Werte nicht auffällig falsch sind. Mit diesen bescheidenen Ansprüchen an unsere Hämoglobinometer müssen wir uns aber auch durchaus begnügen.

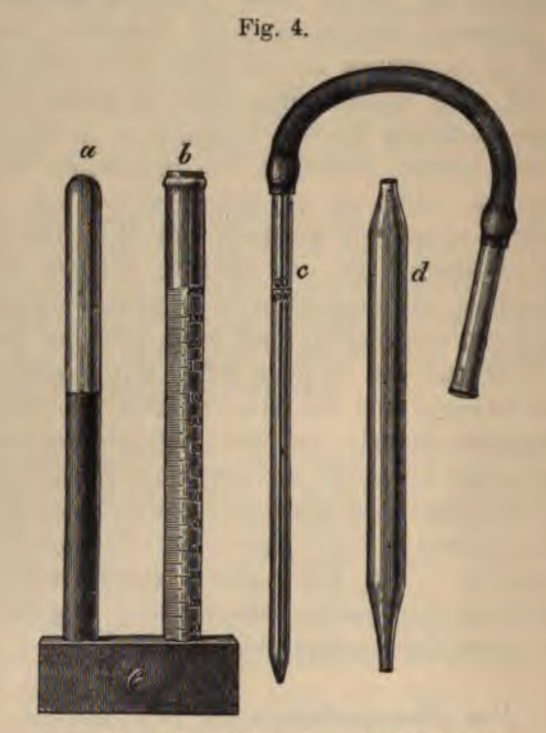
Ich gehe nun nach dieser etwas ernüchternden Darlegung zur Beschreibung der beiden vorerwähnten Apparate und zur Wiedergabe ihrer Gebrauchsanweisung über.

Der Hämoglobinometer von Gowers

mit Ergänzung von Sahli stellt den einfachsten kolorimetrischen Apparat dar. Drei Glasröhrchen von etwa 1 dm Länge und 8 mm Weite sind durchaus gleich kalibriert. Das eine dieser Röhrchen ist am einen Ende offen und trägt an seiner Wandung eine Gradeinteilung von 5 bis zu 140, wobei der zwischen zwei Teilstrichen dieser Skala gelegene Raum einem Kubikinhalt von 20 mm^3 entspricht. In die beiden anderen Röhrchen sind Vergleichsflüssigkeiten eingeschmolzen, deren Gesamtmenge in einem Röhrchen 2 cm^3 beträgt, und welche ihrerseits wieder an Färbungsstärke einer 1%igen Lösung normalen Blutes gleichkommen.

Der obere Rand der Flüssigkeitssäule entspricht also in bezug auf Höhe genau der Marke 100 des graduierten, offenen Röhrchens. Als Vergleichsflüssigkeiten dienen etwas verschieden abgetönte Karmin-Pikrokarminlösungen in Glyzerin. Das eine Röhrchen enthält eine mehr gelblichrote Lösung und trägt an dem einen Ende eine weiße Rosette. Es ist zum Vergleiche mit der zu untersuchenden Blutlösung bei Tageslicht bestimmt. Das zweite

Fig. 4.



Gowers Hämoglobinometer (nach Sahli).

Röhrchen enthält eine reiner rot gefärbte Flüssigkeit und trägt an dem einen Ende eine dunkelrote Rosette; es ist zum Vergleiche bei gelbem, künstlichem Lichte bestimmt, bei welchem verdünnte Blutlösungen einen reiner und dunkler roten Farbenton zeigen als bei diffusem Tageslicht. Die Röhrchen können in einem Korkklötzchen, das entsprechende Vertiefungen aufweist, nebeneinander aufgestellt werden. Den zweiten Hauptbestandteil des Apparates bildet ein kalibriertes Kapillarrohr mit dicker Wandung, das mit einem Kautschukschlauch und einem Glasmundstück versehen und

zur exakten Abmessung einer bekannten Blutmenge bestimmt ist. Füllt man es durch Ansaugen bis zur kenntlich gemachten Marke genauestens mit dem zu untersuchenden Blute, so hat man 20 mm³ Blut in Verwendung gezogen, also eben soviel, als einem Teilstriche des graduierten Vergleichsröhrchens entspricht. Ergänzt wird das Besteck durch ein einfaches Tropfröhrchen und durch einen Tubus für einige Gramm destillierten Wassers.

Prinzip der Methode.

Das Prinzip der Methode ist nach dem bisher Gesagten bereits klar: Ich messe mir 20 mm³ Blut ab, bringe dies in das graduierte Rohr und verdünne so lange mit Wasser, bis die Farbe der Blutlösung an Stärke und Farbenton der Färbung des entsprechenden Vergleichsröhrchens gleichkommt. Da die abgemessene Blutmenge genau einem Teilstrich der Skala, und die Vergleichsflüssigkeit in ihrer Färbungsstärke einer 1%igen Lösung normalen Blutes entspricht, so werde ich, wenn der Hämoglobingehalt des zu untersuchenden Blutes normal ist, Wasser genau bis zur Marke 100 zusetzen müssen, um Farbengleichheit zu erzielen. Beträgt der Hämoglobingehalt des zu untersuchenden Blutes nur die Hälfte der Norm, so werde ich Wasser nur bis zur Marke 50 zusetzen müssen usw. Kurzum: Da wir gewohnt sind, den normalen Hämoglobingehalt durch die Zahl „100“ zum Ausdruck zu bringen, so lesen wir an der Skala, indem wir feststellen, bis zu welchem Teilstriche Wasser zugesetzt werden mußte, zugleich den Hämoglobingehalt des untersuchten Blutes in Prozenten der Norm ab.

Einzelheiten der Ausführung.

In den Einzelheiten wird die Methode wie folgt ausgeführt. Man gibt in das sorgfältig gereinigte und getrocknete graduierte Röhrchen zunächst einige Teilstriche Wasser, sei es destilliertes oder aber reines Quellwasser. Dann saugt man von einem großen, ohne Druck aus der Stichwunde hervorquellenden Tropfen mittels der beigegebenen Kapillarröhre Blut bis zur Marke auf. Die Abmessung muß besonders exakt sein. Es ist gut, den Kautschukschlauch so lang zu wählen, daß man das Auge annähernd gerade oberhalb die Marke der Kapillarröhre zu bringen vermag, ohne den Schlauch zu knicken. Dadurch wird zunächst die grobe Einstellung der Blutsäule eine genauere, als wenn man von weiterer Entfernung her abliest. Sodann entfernt man die Kapillarpipette vom Bluttropfen und wischt ihre Spitze von außen sorgfältig mit einem Tuche oder mit Filtrierpapier ab, wobei man

darauf zu achten hat, daß nichts aus der Kapillare wieder herausgesogen wird. Dann bringt man sofort die Marke der Kapillare in Augenhöhe etwa in die vertikale Körperachse und sieht nochmals, ob die Einstellung des oberen Flüssigkeitsendes genau mit ihr übereinstimmt. Ist etwas zu wenig Blut eingesogen, so muß man nachsaugen; ist etwas Weniges zuviel, so muß man den Überschuß entfernen. Das geschieht am besten in der Weise, daß man mit einer Fingerspitze der linken Hand zart über das vordere Ende der Blutsäule an der Spitze der Kapillare hinwegstreicht; es bleibt zumeist eine Spur von Blut haften, und das setzt man so lange fort, bis das obere Ende der Blutsäule ganz genau mit der Marke abschneidet. Haftet ohne weitere Beihilfe nichts am Finger, so muß man mit dem Mund am Mundstückende des Schlauches einen leichten Druck ausüben, dann geht es sicher. Das will aber geübt sein; denn wenn man ordentlich drückt, d. h. bläst, so treibt man natürlich zuviel Blut aus der Kapillare hinaus, was unbedingt vermieden werden muß. Man hat endlich nur noch darauf zu achten, daß dann, wenn das obere Ende der Blutsäule mit der Marke abschneidet, auch die Spitze wirklich vollkommen mit Blut erfüllt ist, und daß dort nicht etwa eine Luftblase sitzt. Letzteres kommt manchmal dadurch zustande, daß nach erfolgtem Abstreifen sich die Blutsäule an der benetzten Wand von selbst wieder bis zu der ursprünglichen Höhe zurückzieht; merkte man das nicht, so könnte man einen beträchtlichen Fehler machen. All das muß mit großer Behendigkeit geschehen, damit das Blut nicht erst ganz oder teilweise gerinnt; geschieht letzteres, so ist die Untersuchung unbrauchbar, weil das Hämoglobin sich niemals vollkommen dem Gerinnsel entziehen läßt.

Ich führe alle diese Kleinigkeiten so eingehend an, weil von ihnen in sehr hohem Grade die Verläßlichkeit der Bestimmung abhängt. Sie brauchen übrigens all das später bei der Abmessung des Blutes in den Schüttelmischern des Fleischl-Miescherschen Apparates und der Zählapparate immer wieder.

Die genau abgemessene Blutmenge nun bläst man in das bereitgehaltene graduierte Rohr, beziehungsweise in das darin bereits enthaltene Wasser. Dann saugt man die Kapillare nochmals mit Wasser voll, bläst dieses neuerlich in das graduierte Rohr, wiederholt das nochmals, um sicher zu sein, daß auch die letzten Spuren von Hämoglobin aus der Kapillare entfernt und in das Mischgefäß gebracht wurden. Nun wird das Blut im Mischgefäße

mit dem vorhandenen Wasser durch Umschwenken oder am besten durch Umrühren mit einem feinen, aber nicht gar zu dünnen Metall-(Silber-)draht gründlich gemischt und man setzt anfänglich ziemlich rasch mittels des Tropfröhrchens weiter Wasser zu, so lange, bis die Färbung der Blutlösung sich derjenigen des Vergleichsröhrchens bereits zu nähern beginnt. Jetzt muß man genauer vergleichen. Zu diesem Zwecke bringt man hinter die beiden auf dem Korkklötzchen aufgestellten Röhrchen ein weißes Blatt Papier und beobachtet scharf im auffallenden Lichte. Unter fortwährendem Mischen wird tropfenweise weiter so lange Wasser zugesetzt, bis bei wiederholter Beobachtung eine möglichst vollkommene Farbenübereinstimmung beider Röhrchen erzielt ist. Dann liest man ab, derart, daß man das Auge in die Höhe des deutlich konkaven Flüssigkeitsspiegels bringt und nun feststellt, welcher Teilstrich mit dem unteren Pol dieses konkaven Oberflächenmeniskus zusammenfällt. Die dort abgelesene Zahl gibt nach dem oben auseinandergesetzten Prinzip direkt den Hämoglobingehalt in Prozenten des normalen an. Es ist gut, nach gemachter Ablesung das Auge einen Augenblick ruhen zu lassen und dann nochmals zu vergleichen, ob man wieder den Eindruck voller Farbenübereinstimmung hat. Auf diese Weise werden die Ablesungsfehler möglichst vermindert. Leider ist es nicht möglich, die Ablesung auf andere Art weiter zu kontrollieren. Bei genauer Arbeit und einiger Übung, die zur Handhabung jedes dieser Apparate erforderlich ist, gelingt es trotzdem, gut übereinstimmende Resultate zu erzielen. Wenig Zutrauen habe ich bloß zu den ganz niedrigen Werten bei sehr blassem (hämoglobinarmem) Blute, während bei hämoglobinreichem Blute selbst weit über die Norm hinauf (140%) ziemlich gleich günstige Bestimmungsbedingungen vorhanden sind. Man darf die Fehlerbreite der einzelnen Ablesungen nach Sahli etwa auf 5—10% der Skala schätzen. Auf eines muß ich besonders aufmerksam machen. Die farbigen Vergleichsflüssigkeiten sind nicht unbegrenzt haltbar, sie blassen, namentlich wenn sie längere Zeit dem Lichte ausgesetzt sind, im Laufe der Jahre stark ab und sind dann gar nicht mehr zu gebrauchen.

Fehler des Apparates.

Man wird also immer auf der Hut sein müssen, daß man nicht derartig abgeblaßte Vergleichsflüssigkeiten verwendet; dann bekommt man nie brauchbare Resultate. Darin sehe ich den gröbsten Fehler des Apparates, der das Vertrauen in seine Zahlen

namentlich deshalb erschüttern muß, weil sich der Zeitpunkt der beginnenden Abblassung doch nicht halbwegs genau kontrollieren läßt. Eine Kontrolle an der Hand von „Blutarten, die man als normal zu betrachten Ursache hat", wie das Sahli vorschlägt, beruhigt wohl nur sehr wenig das hämatologische Gewissen, da es wohl schwer sein wird, irgend jemanden so ohneweiters als „Normalblut-Menschen" sicherzustellen. Ich muß sagen, daß gerade dieser Umstand des Abblassens der Farblösungen, von dem ich an zwei Apparaten der Klinik das abschreckendste Beispiel vor mir habe, mir den Apparat für den Gebrauch an der Klinik vollständig entfremdet hat. Wer damit arbeitet, wird gut tun, die Vergleichsröhrchen nach ein bis zwei Jahren immer wieder auswechseln zu lassen, indem er die alten Röhrchen behufs ganz gleicher Kalibrierung der neuen Röhrchen an den Fabrikanten zurückschickt. Auch empfiehlt es sich wohl, sich ausschließlich an die von Sahli als gewissenhaft empfohlenen Bezugsquellen *) zu halten, um nicht von vornherein unbrauchbare Apparate zu bekommen.

Dem praktischen Arzte empfiehlt sich der Hämoglobinometer von Gowers einerseits durch seine handliche Form — er kann bequem in der Tasche untergebracht werden — und durch die einfache Art der Handhabung, andererseits durch den billigen Preis ($8^1/_2$ Francs). Da er, Brauchbarkeit der Vergleichslösungen vorausgesetzt, durchaus nicht wesentlich ungenauere Resultate liefert als der Hämometer von Fleischl, kann ich ihn Praktikern, insbesondere solchen auf dem Lande, immerhin empfehlen.

*) Glasbläser Hotz oder Optiker Büchi in Bern.

2. Vorlesung.

(Hämometrie, Fortsetzung.)

v. Fleischls Hämometer*)

ist der zweite allgemein gebräuchliche kolorimetrische Apparat zur Hämoglobinbestimmung. Er ist viel umfangreicher und komplizierter als der von Gowers, liefert aber nur unter bestimmten Bedingungen bessere Resultate als dieser. Er ist unbequem für den Transport und kostet 70 K. Sein Gebrauch wird sich also weniger für den Praktiker draußen, als für Laboratorien und Institute empfehlen.

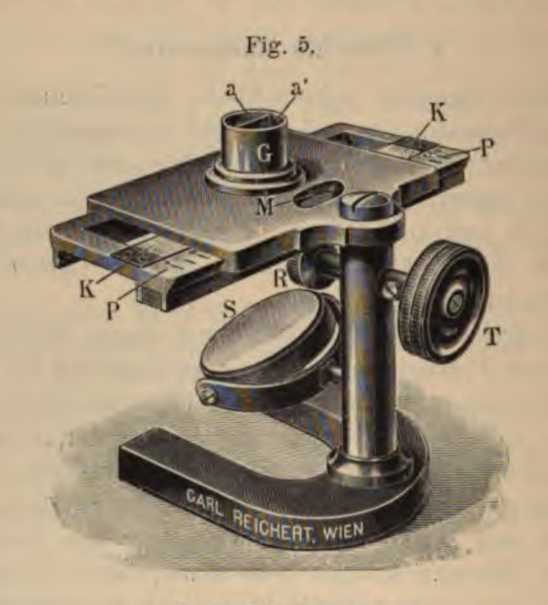
Beschreibung.

Der Apparat besteht zunächst aus einem niedrigen Stativ, das dem eines Präpariermikroskopes nachgebildet ist. Der Tisch des Gestelles zeigt in der Mitte seiner Längsachse zwei Öffnungen: zentral eine größere runde, gegen den Beobachter zu gelegen eine längliche kleinere Öffnung. Inmitten der Längsseite dieser letzteren Öffnung, also genau in der Mitte der Längsachse des Tisches, ist eine Marke sichtbar. Unterhalb des Tisches ist an Stelle eines Mikroskopspiegels eine runde, ebene Gipsplatte nach allen Seiten beweglich angebracht, welche den Zweck hat, das gleichmäßig zerstreute Licht der vor dem Apparate befindlichen Lichtquelle in die zentrale runde Öffnung zu werfen. In diese mittlere Öffnung des Tisches paßt ein zylindrisches Mischgefäß (G) aus Metall mit abschraubbarem Glasboden, welches in der Mitte durch eine dünne, metallene Scheidewand in zwei gleiche Hälften geteilt wird. Das Mischgefäß wird dermaßen in die runde Öffnung des Tisches eingefügt, daß seine Scheidewand in die Längsachse des Tisches zu liegen kommt. An der unteren Fläche des Tisches finden sich zwei Rinnen, in welchen ein metallener Rahmen mittels eines am Stativ angebrachten Schraubengetriebes in der Richtung der Längsachse des Tisches verschoben werden

*) Zu beziehen von C. Reichert, Wien, VIII. Bennogasse.

kann. Dieser Rahmen dient als Träger für einen Glaskeil, der mit Cassiusschem Goldpurpur rot gefärbt ist und in dem Rahmen so eingefügt erscheint, daß sein äußerer Rand genau mit der Scheidewand des Mischgefäßes zusammenfällt. Bewegt man also den Glaskeil mittels des Getriebes, so wird er unter der dem Beobachter zugekehrten Hälfte des Mischgefäßes verschoben, während die andere Hälfte frei über der Gipsplatte liegt. An der Oberfläche des dem Beobachter zugekehrten Balkens des Keilrahmens ist eine Einteilung, welche von 0—125 reicht, ange-

Fig. 5.



v. Fleischls Hämometer.

bracht. Sie erscheint beim Verschieben des Keiles in dem länglichen Ausschnitte des Tisches, und zwar mit dem Fußende an dessen äußerer Kante, so daß man mittels der dort angebrachten schon oben erwähnten Marke genau einstellen kann. Der letzte wesentliche Bestandteil des Apparates ist eine kleine, geeichte Kapillarpipette aus Glas mit einem flachen Metallstiel, welche zur Abmessung der zur Untersuchung kommenden Blutmenge dient. Sie faßt wenig, zumeist zwischen 7 und 8 mm^3; die gewöhnlichen Marken sind 7,65, 7,85, 7,5. Der Kubikinhalt schwankt innerhalb dieser Grenzen, weil es nicht möglich ist, immer ganz gleich stark gefärbte Keile herzustellen und weil nach der etwas

verschiedenen Keilfärbung die zu verwendende Blutmenge variiert werden muß. Der Kubikinhalt der Kapillarpipette ist auf ihrem Griffe eingraviert; ebenso trägt das Stativ jedes Apparates auf seinem Kopfe die den Kubikinhalt der Pipette angebende Marke. Es ist selbstverständlich, daß für einen Keil von der Marke 7,65 auch nur eine Pipette derselben Marke verwendet werden darf. Bei Nachbestellungen von Kapillarpipetten ist also immer die Marke des Apparates anzugeben. Ein gewöhnliches Tropfröhrchen vervollständigt auch hier das Instrumentarium.

Prinzip der Methode.

Das Prinzip der Methode ist leicht zu durchschauen. Man bringt die abgemessene Blutmenge in diejenige Hälfte des Mischgefäßes G, welche nicht über dem Glaskeile steht, und füllt mit Wasser bis zum horizontalen Abschlusse in der Öffnung des Gefäßes auf. In die andere Hälfte des Mischgefäßes kommt reines Wasser, ebenfalls bis zu ebenem Anschlusse am oberen Gefäßrande. Beide Hälften des Gefäßes werden mit Hilfe der Gipsplatte mit gelbem Lichte gleichmäßig beleuchtet, und nun verschiebt man den Keil so lange, bis beide Hälften des Mischgefäßes eine möglichst gleich starke Rotfärbung des Gesichtsfeldes aufweisen. Dann wird an der Skala abgelesen; die dort ersichtliche Zahl gibt wie beim Hämoglobinometer von G o w e r s direkt den Hämoglobingehalt des untersuchten Blutes in Prozenten des Normalen an.

Im einzelnen ist eine Hämoglobinbestimmung mittels des Hämometers auf folgende Weise durchzuführen:

Gebrauchsanweisung.

Man gibt zunächst in jene Hälfte des Mischgefäßes, welche die Blutlösung aufnehmen soll, etwa bis zu $^1/_3$ der Kammerhöhe mittels des Tropfröhrchens reines Quellwasser oder destilliertes Wasser und achtet darauf, ob nicht ein Übersickern von Wasser in die andere Gefäßhälfte stattfindet. Wäre dies der Fall, so würde der Glasboden nicht wasserdicht der Metallwand des Gefäßes anliegen und es müßte das Gefäß zerschraubt und neuerlich gründlich gereinigt werden, bis ein vollkommen wasserdichter Abschluß der Bodenhälften erreicht ist. Bei tadellosem Zustand des Apparates und stets sorgfältiger Reinigung kommt ein solches Übersickern nur selten vor.

Sodann wird die gründlich gereinigte und völlig trockene Kapillarpipette mit Blut gefüllt, indem man das eine Ende des horizontal gehaltenen oder etwas nach abwärts geneigten Kapillarrohres an die Kuppe des ohne Druck der Wunde entquellenden Bluttropfens anlegt. Niemals darf das Röhrchen tiefer in den

Tropfen eingetaucht oder gar bis an die Haut gebracht werden. Die Kapillare saugt sich, wenn sie wirklich rein war, blitzschnell von selbst mit Blut voll. Man hat nun die Aufgabe, darauf zu achten, daß die Abmessung des Blutes peinlich genau geschehe. Daher muß zunächst jede Spur von Blut, welche der äußeren Wand der Kapillare anhaften sollte, mit Fließpapier oder feinem Leinentuch vollständig beseitigt werden, ohne daß dabei vom Inhalt der Kapillare etwas abgesaugt wird. Sodann muß sichergestellt werden, daß die innerhalb der Kapillare befindliche Blutsäule wirklich an beiden Enden vollständig eben mit dem Ende der Kapillare abschließt. Das wird von vornherein nur selten der Fall sein; zumeist wird entweder zu wenig oder etwas zuviel Blut darin sein und danach der Abschluß der Blutsäule mit einem beiderseitigen konkaven oder aber einem über den Rand sich vorwölbenden konvexen Meniskus erfolgen. Im ersteren Falle muß die Kapillare nochmals an die Oberfläche des Bluttropfens gebracht und besser gefüllt werden, im zweiten Falle muß die überschüssige Blutmenge abgesaugt werden. Hiezu eignen sich am besten die feinen randständigen Fasern eines nicht gesäumten Leinentuches oder aber das spitze Ende eines Wollfadens, mit deren Hilfe es ganz leicht gelingt, eine vollkommen ebene Einstellung der Blutsäule zu erreichen. Der ganze Vorgang der Abmessung muß schnellstens vonstatten gehen, damit das Blut nicht innerhalb der Kapillare zu gerinnen anfängt.

Nunmehr wird die Kapillare mit ihrem Inhalt in die bereits teilweise mit Wasser gefüllte Hälfte des Mischgefäßes G gebracht und in dem Wasser lebhaft geschwenkt. Dadurch geht das Blut im Wasser allmählich in Lösung und man schwenkt so lange, bis die Kapillare nicht mehr dunkler rot erscheint als die umgebende Flüssigkeit. Hierauf hebt man die Kapillare heraus, spült die ihr außen anhaftende Spur von Blutlösung mit einigen wenigen Tropfen Wassers aus dem Tropfröhrchen in das Mischgefäß und verdrängt auch aus der Kapillare den letzten Rest der Blutlösung, indem man einen Tropfen Wasser hindurchpreßt; so gelangt wirklich das ganze abgemessene Blut in Lösung, und man füllt jetzt tropfenweise mit Wasser so lange nach, bis die Flüssigkeit mit dem oberen Rande des Gefäßes möglichst vollkommen eben abschließt. Oft geschieht es hiebei, daß die Blutlösung nicht gleichmäßig gemischt, sondern wolkig erscheint. Man kann diese Ungenauigkeit beseitigen, wenn man unmittelbar vor Zufügung der

letzten Tropfen Wasser noch mit dem Stiele der Kapillarpipette in das Mischgefäß eingeht und gründlich mischt, worauf man mit den letzten Wassertropfen die am Stiele haften gebliebenen Spuren der Blutlösung wieder ins Mischgefäß zurückspült. Die über dem Keile stehende Hälfte des Gefäßes wird nun — oder auch schon früher — mit Wasser bis zu ebenem Abschluß am Rande gefüllt, und jetzt kann die Bestimmung beginnen.

Der Apparat ist ausschließlich bei künstlichem, und zwar gelbem Lichte zu verwenden; Tageslicht muß mit möglichster Vollständigkeit ausgeschlossen werden, weil sonst die Farbenübereinstimmung zwischen Keil und Blutlösung, die ohnedies nicht immer ideal ist, wesentlich leidet. Man bringt also den Apparat in den dunkelsten Teil des Zimmers und beseitigt den Rest des Tageslichtes möglichst gründlich durch Schutzvorrichtungen. Am besten ist es, eine Dunkelkammer für den Apparat zu verwenden, einen Holzkasten, welcher nur eine Öffnung für das einfallende gelbe Licht und eine zweite zur Beobachtung besitzt.*) In Ermanglung eines solchen verwendet man am besten hohe, geschwärzte Pappendeckelblätter, welche spitzwinklig aneinander befestigt, den Apparat mit Einschluß der Lichtquelle von zwei Seiten einschließen, während die dritte Seite des einschließenden Dreieckes durch den Körper des Beobachters gebildet wird. Als Lichtquelle ist am besten eine kurze gewöhnliche Wachskerze oder ein kleines Petroleumlämpchen zu verwenden. Auerlicht oder elektrisches Licht sind nicht zu brauchen. Man muß dafür sorgen, daß die Gipsplatte so gestellt sei, daß das Licht in beide Hälften des Mischgefäßes gleichmäßig reflektiert wird. Um eine noch vollkommenere Gleichheit der Beobachtungsbedingungen zu erzielen, empfehlen manche Autoren (C a b o t) den Apparat so aufzustellen, daß der Beobachter an der Schmalseite des Apparates steht; ich halte das aber für meine Person nicht gerade für notwendig. Ich sehe nur darauf, daß die Flamme niedrig und nicht zu weit von der vorderen Tischkante entfernt stehe; dann ist die Beleuchtung grell und in beiden Gesichtsfeldhälften vollkommen gleich stark.

Die nunmehr folgende Beobachtung und Einstellung des Keiles soll am besten mit beiden Augen, unbedingt aber immer in der gleichen Weise erfolgen. Denn sehr häufig sind die beiden Augen nicht nur verschieden licht-, sondern auch verschieden

*) Wird von C. Reichert um K 8.— geliefert.

farbenempfindlich, und die mit jedem Auge einzeln gewonnenen Werte müssen durchaus nicht miteinander übereinstimmen. Am sichersten geht man, wenn man auch die Augen vor seitlich einfallendem Tageslicht und vor dem direkten Strahle der Lichtquelle möglichst schützt. Es empfiehlt sich also, durch ein geschwärztes Papier- oder Pappendeckelrohr, welches nur so weit sein muß, daß man durch dasselbe binokulär sehen kann, auf das Mischgefäß senkrecht hinabzublicken und nun den Keil mittels des Getriebes so weit zu verschieben, bis die Farbentöne in beiden Hälften des Mischgefäßes möglichst genau übereinstimmen. Hat man dies erreicht, so liest man an der Skala ab, verschiebt den Keil, stellt neuerlich ein und liest wieder ab usw. Dies wiederholt man sechs- bis zehnmal, indem man einmal vom dunkleren Teile des Keiles, einmal vom helleren Anteile her gegen die richtige Färbungsstärke zu vorgeht. Zwischen den einzelnen Ablesungen empfiehlt es sich, öfters kleine Pausen von einigen Sekunden einzuschalten, da das Auge bei längerer Betrachtung farbiger Flächen leicht ermüdet und dann die Resultate immer ungenauer werden. Das Resultat jeder Ablesung wird gemerkt oder notiert, und schließlich nimmt man das Mittel aus den sechs bis zehn gemachten Ablesungen als endgültigen Wert.

Bei diesem peinlichen Vorgehen gelingt es, den allgemeinen Arbeits- und insbesondere den Ablesungsfehler auf ein möglichst niedriges Maß einzuengen, und es ist Tatsache, daß man unter solchen Bedingungen bei vergleichenden Bestimmungen gut übereinstimmende Werte erhält. Es dürfen Differenzen von mehr als drei bis fünf Skalenteilen bei wiederholter Ablesung und selbst bei unmittelbar nacheinander wiederholter Gesamtuntersuchung nicht vorkommen. Innerhalb derselben Grenzen schwanken im allgemeinen auch die Mittelwerte, welche verschiedene Beobachter bei der Untersuchung derselben Blutlösung bekommen, immer vorausgesetzt, daß die Färbung des Keiles eine gut gelungene ist. Manchmal ist trotzdem die Farbenübereinstimmung zwischen Keil und Blutlösung eine sehr unvollständige, indem das Blut einen dunkleren Farbenton zeigt. Es scheint, daß in solchen Fällen zuviel von dem düster rot gefärbten gasfreien Hämoglobin im Blute vorhanden ist. Wenn man nur eine Minute wartet, kann die Farbenübereinstimmung dann, weil inzwischen Sauerstoff aus der Luft aufgenommen wurde, schon eine bessere, selbst vollkommene sein.

Im allgemeinen aber ist es notwendig, die Ablesung unmittelbar an die Blutentnahme anzuschließen. Abgesehen davon, daß Wasser verdunstet und man nachfüllen müßte, trübt sich auch die Blutlösung sehr leicht bei einigem Stehen, und dann ist eine Ablesung überhaupt nicht mehr mit der wünschenswerten Genauigkeit möglich. Regelmäßig trübe ist die Blutlösung bei jenen Erkrankungen, wo eine ganz ungeheuer vermehrte Zahl weißer Blutzellen in der Raumeinheit vorhanden ist, also vor allem bei der myeloiden Leukämie, weniger bei den wegen ihrer Kleinzelligkeit minder störenden lymphoiden Formen. In diesen Fällen kann man eine wesentliche Verbesserung und Klärung der Blutlösung dadurch erzielen, daß man für dieselbe anstatt Wasser eine $^{1}/_{10}$%ige Lösung von Natrium carbonicum purum verwendet.

Wenn ich oben sagte, daß man Arbeits- und Ablesungsfehler von mehr als drei bis fünf Skalenteilen vermeiden kann, so bezieht sich das nicht auf die ganze Länge des Keiles. Es ist vielmehr eine sehr auffallende Tatsache, daß die Farbenübereinstimmung zwischen Keil und Blutlösung gerade in den mittleren Partien des Keiles, etwa zwischen den Skalenteilen 30 und 70 die weitaus beste und vollkommenste ist, während die genaue Einstellung unterhalb der ersteren und namentlich hoch oberhalb der letzteren Grenze auf größere Schwierigkeiten stößt, und tatsächlich viel weniger verläßlich durchführbar ist. Ich komme damit auf die durchaus nicht geringen, im Apparate selbst gelegenen Fehlerquellen zu sprechen.

Die Hauptfehlerquelle bildet ohne Frage der Keil. Zunächst ist es nach Aussage des Fabrikanten selbst außerordentlich schwer, gleichmäßig mit Goldpurpur gefärbte Glasplatten, die dann erst keilförmig zugeschliffen werden, zu bekommen. Zweitens ist der Farbenton nicht leicht richtig zu treffen, und aus diesen beiden Gründen muß unter den erzeugten Keilen eine strenge Auswahl getroffen werden. Die verhältnismäßig geringen Unterschiede in der Färbungsstärke einzelner sonst guter Keile werden nach Möglichkeit durch geringgradige Veränderung des Kubikinhaltes der zu verwendenden Kapillare ausgeglichen (siehe oben). Drittens aber ist die Teilung der Skala eine recht primitive und beinahe willkürliche zu nennen. Der Punkt „100“ wird durch Vergleich mit einem „Normalinstrumente“ fixiert, und von ihm aus wird das Gebiet bis zur Spitze des Keiles einfach in hundert gleiche Fehlerquellen.

Teile geteilt. Aber auch der Punkt 100 ist auf rein empirische Weise festgestellt worden, indem man eine Reihe von gesunden jungen Leuten hernahm, von jedem eine Bestimmung machte und aus den Ergebnissen derselben den Mittelwert als Normalzahl 100 aufstellte — ganz ähnlich wie beim Apparate von Gowers.

Abgesehen davon, daß infolge des Mangels einer Eichung nach einer Original-Hämoglobinlösung die absoluten Werte nicht wirklich genau sein können, haben vergleichende Untersuchungen mit immer stärker verdünnten Hämoglobinlösungen ergeben, daß namentlich die Werte, welche bei Verwendung der dünnsten Partien des Keiles gewonnen werden, im Verhältnis zu den höheren Werten zu niedrig sind. Dehio hat z. B. bei seinem Instrumente gefunden, daß der Wert bei 100 stimmt, bei 78,6 um 1,4, bei 56,4 um 3,6, bei 45,5 um 4,5, bei 34,8 um 5,2 und bei 14,5 gar um 5,5 zu niedrig sei, und hat sich eine dementsprechende Korrekturtabelle angelegt. Solche Vergleichsbestimmungen mit Original-Oxyhämoglobinlösungen sollten aber wohl von Seite des den Apparat erzeugenden Institutes durchgeführt und der Skaleneinteilung zugrunde gelegt werden. Jedenfalls geht daraus hervor, daß bei niedrigem Hämoglobingehalte der Apparat gar zu niedrige Werte gibt, was besonders deshalb ins Gewicht fällt, weil man doch gerade bei schweren Anämien auf die Hämoglobinbestimmung ein besonders großes Gewicht zu legen gewohnt ist. Dieser Nachteil kann auch durch die Tatsache nicht beseitigt werden, daß bei niedrigen Hämoglobinwerten, wo eben dünnere Partien des Keiles in Verwendung kommen, die Farben- und Helligkeitsübereinstimmung mit der Blutlösung eine gute und daher die Einstellung eine relativ genaue ist. Bei höheren Werten hingegen, insbesondere von 80 aufwärts, läßt wegen der sehr beträchtlichen Dicke des Keiles und der Lichtabsorption durch denselben die Helligkeit in der dem Keile entsprechenden Gesichtsfeldhälfte manches zu wünschen übrig, und der Färbungsunterschied tritt daher weniger scharf hervor, so daß in diesen Regionen wenigstens für mein Auge die Einstellung entschieden ungenauer ist als bei den mittleren und selbst den dünneren Partien des Keiles.

Hat allerdings ein Blut einmal 80% Hämoglobin oder mehr, so kommt es auf fünf Skalenteile mehr oder weniger nicht mehr so sehr an. Es ist dann ohnedies keine belangreiche Verminderung des Farbstoffgehaltes vorhanden. Wohl aber machen sich die zu niedrigen Werte bei sehr geringem Hämoglobingehalte,

z. B. 15—25%, unangenehm bemerkbar. Man kann sich aber da auf eine einfache Weise recht gut helfen, indem man in solchen Fällen die doppelte, ja dreifache Menge von Blut in der Kammer mit dem Wasser mischt, den Wert bestimmt und dann durch zwei oder drei dividiert. Ich muß ein solches Vorgehen in allen Fällen, wo der Hämoglobingehalt nach oberflächlicher Schätzung (Handtuchprobe) weniger als dreißig beträgt, sehr lebhaft empfehlen. Man trocknet die Pipette, nachdem man sie gründlich in das Mischgefäß entleert hat, rasch mittels eines durchgezogenen Wollfadens und saugt ein zweitesmal Blut auf, natürlich mit derselben Peinlichkeit wie sonst, zumal jetzt jeder Fehler bei der Blutabmessung doppelt gemacht wird. In einem Falle perniziöser Anämie im Endstadium, deren Blut ganz außerordentlich wässerig aussah, mußte ich sogar zwei Pipetten je zweimal füllen und ins Mischgefäß entleeren, um schließlich einen Ablesungswert von 30 zu erhalten. Der daraus resultierende wirkliche Hämoglobinwert von 7,5% ist allerdings die niedrigste Zahl, die ich jemals zu beobachten Gelegenheit hatte! Beträgt der Hämoglobinwert nach dem Ergebnisse der oberflächlichen Schätzung (Handtuchprobe) voraussichtlich mehr als 30, so bleibe man lieber bei Verwendung bloß einer Kapillarpipette, da bei Werten über 70 der Ablesungsfehler bereits wieder größer wird.

Im Anschluß an die Besprechung der vom Keile abhängigen Fehlerquellen muß ich eines Nachteiles gedenken, der von dem ziemlich großen Durchmesser des Mischgefäßes abhängt. Unter dem linksseitigen Ende dieses Gefäßes befindet sich eine wesentlich dünnere Partie des Keiles als unter dem rechten Ende, und dieser Unterschied läßt sich in der verschiedenen Färbungsintensität am linken und am rechten Ende der Kammer ganz leicht erkennen, wenn er auch nicht aufdringlich zutage tritt. Die Blutmischung in der anderen Hälfte des Mischgefäßes ist rechts wie links ganz gleich gefärbt. Wir sind also in die mißliche Lage versetzt, etwas durchaus gleichmäßig Gefärbtes mit einem ungleich stark gefärbten Medium zu vergleichen, und das stört hie und da schon ganz merklich, insbesondere wieder im Bereiche der niedrigen Skalenteile, während der Unterschied bei den mittleren und höheren Werten zurücktritt.

Eine weitere wesentliche Fehlerquelle ist meines Erachtens in den Kapillarpipetten zu suchen. Einmal ist die in Verwendung gezogene Blutmenge überhaupt sehr klein, außerdem aber muß

ich schon sagen, daß es mir recht schwer zu sein scheint, ein so dünnes Glasröhrchen auf $^1/_{100}$ mm³ genau zu eichen, beziehungsweise viele derartige Röhrchen ganz gleichwertig herzustellen. Die dünnen Röhrchen sind ja sehr gebrechlich, und wenn man nur ein wenig unvorsichtig ist, kommt man leicht in die Lage, eine neue Kapillarpipette zu brauchen. Mir erscheint jedenfalls die Blutabmessung nach dem beim Apparate von Gowers angewendeten Prinzipe weit überlegen zu sein. Und endlich ist noch einmal der Umstand, den ich schon oben streifte, daß die Mischung der kleinen Blutmenge in dem Mischgefäße keine sehr exakte ist, ebenfalls als Fehlerquelle hervorzuheben.

Sie ersehen daraus, daß sich bei ganz objektiver Kritik der v. Fleischlsche Apparat als durchaus nicht fehlerfrei erweist. Eine Bestätigung meiner Auseinandersetzungen ist auch aus den Ergebnissen zu entnehmen, welche die vergleichende Prüfung verschiedener Hämometer liefert. Ich habe vor kurzem die fünf auf unserer Klinik vorhandenen Hämometer unmittelbar nebeneinander mit einem Blute mittleren Hämoglobingehaltes (50 bis 60% der Norm) geprüft, und da zeigte es sich, daß die mit den verschiedenen Apparaten gefundenen Werte zwischen 50% und 58% schwankten, trotz der sorgfältigsten Arbeit und mehrfacher Kontrolle der Ablesungen. Bei ganz alten Apparaten waren übrigens die Keilfärbungen oft noch wesentlich mangelhafter; die neueren Apparate sind doch wenigstens in dieser Hinsicht, was nämlich Farbenübereinstimmung betrifft, besser gelungen.

Ich möchte mit diesen kritischen Bemerkungen in keiner Weise das der Methode zugrunde liegende Prinzip treffen; es sind nur die Schwierigkeiten, welche sich der Ausführung entgegenstellen, beträchtlich, und sie sind, wie es mir scheint, nicht immer in gerade glücklicher Weise bewältigt.

Reicherts Taschenhämometer.

Reichert hat es nun gar unternommen, da der Hämometer für den Praktiker zu schwer transportabel ist, einen Taschenhämometer zu erzeugen, welcher im wesentlichen eine Verbindung der Prinzipien der Apparate von Gowers und von Fleischl darstellt. Anstatt des Keiles ist eine einfache, mit Goldpurpur gefärbte, überall gleich dicke Glasplatte in Verwendung gezogen, und die Farbenübereinstimmung zwischen Glasplatte und Blutlösung wird wie bei Gowers durch Verdünnung der mittels der Fleischlschen Kapillarpipette abgemessenen

und in ein graduiertes Röhrchen gebrachten Blutmenge erzielt. Das Ganze ist einfacher montiert und in ein in der Tasche unterbringbares Etui gezwängt. Der Apparat hat vor dem Hämoglobinometer von Gowers den Vorteil, daß die Glasplatte in ihrer Färbung konstanter ist, also nicht leicht verblaßt, wie die Karmin-Pikrokarminlösungen, hingegen den Nachteil, daß erstens zur Blutabmessung die ungenauere Kapillarpipette von Fleischl verwendet wird, und daß der Apparat so wie der Hämometer von Fleischl nicht bei Tageslicht, sondern nur bei gelbem künstlichem Lichte verwendet werden kann. Meines Erachtens bedeutet sonach der Taschenhämatometer für den Praktiker draußen zum mindesten keinen Fortschritt gegenüber dem Apparate von Gowers, in Klinik und Laboratorium wird er wohl überhaupt kaum in Betracht kommen.

Wie aus dem ganzen ersichtlich, ist der Hämometer von Fleischl in seiner ursprünglichen Form, obwohl er seiner Bestimmung nach höheren Anforderungen entsprechen sollte, dennoch einer strengeren Kritik nicht gewachsen. Ich spreche hier von dem Hämoglobinometer von Gowers nicht weiter, weil dieser Apparat in seiner anspruchslosen Form von vornherein für den Praktiker berechnet erscheint, und ihm gegenüber der Hämometer schon einen Apparatus magnus darstellt.

Da aber das Prinzip ein gutes ist, erscheint es begreiflich, daß man an Verbesserungen des Apparates gearbeitet hat, und Miescher hat es tatsächlich zuwege gebracht, einen großen Teil der Fehlerquellen des alten Hämometers glücklich zu vermeiden oder zu verkleinern. Der durch seine Abänderungen entstandene

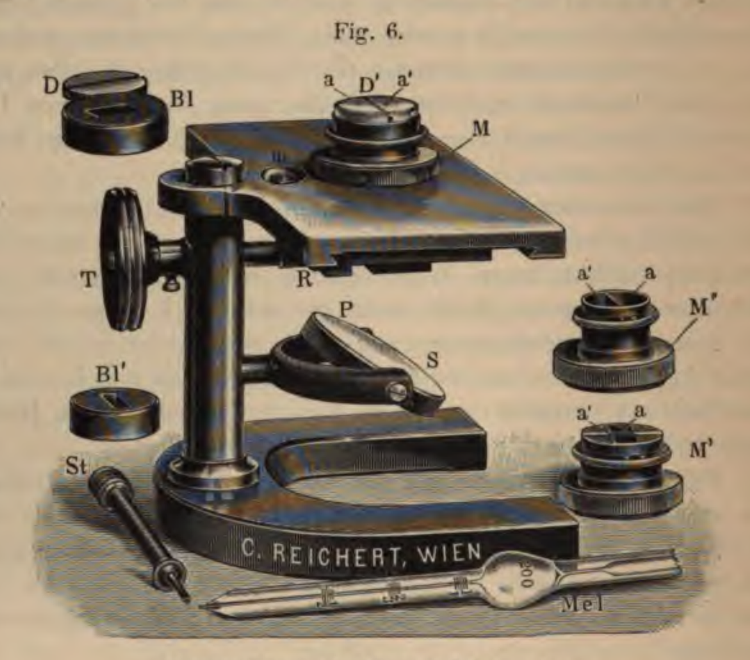
Hämometer nach Fleischl-Miescher

wird gleichfalls von Reichert erzeugt und stellt ohne Zweifel den weitaus besten und genauesten der für Klinik und Laboratorium ohne Schwierigkeit brauchbaren Apparate zur Hämoglobinbestimmung dar.

Der Apparat behält in allen Punkten die äußere Form des Hämometers bei: das gleiche Stativ, die gleiche Art der Beleuchtung, als Vergleichsmittel der Keil in seinem Rahmen wie früher. Ganz wesentlich verändert sind jedoch: die Blutabmessung und Blutverdünnung, die Form des Mischgefäßes und die Art der Eichung des Keiles. Beschreibung der Verbesserungen.

Zur Abmessung und Verdünnung des Blutes verwendet Miescher einen Schüttelmischer nach Art der beim Thoma-Zeißschen Zählapparate in Verwendung stehenden Kapillar- und Mischpipetten. An ein enges, genau kalibriertes Kapillarrohr ist eine birnförmige Ampulle angeschmolzen, in deren Innerem eine Glasperle frei beweglich liegt; oben verjüngt sich die Birne wieder zu einem mittelengen Rohr. Das Ganze ist massiv in Glas ausgeführt und das obere Ende des Glasrohres ist mit einem

Fig. 6.



Hämometer nach Fleischl-Miescher.

Kautschukschlauche verbunden, der an seinem freien Ende hinwieder ein Elfenbeinmundstück trägt. Das Verhältnis zwischen dem Rauminhalte des Kapillarrohres und dem der Ampulle ist nun derart gestaltet, daß die Ampulle bis zu einer unmittelbar oberhalb ihres Endes angebrachten Marke genau 200mal soviel faßt als das Kapillarrohr bis zu der an seinem oberen Ende befindlichen mit 1 bezeichneten Marke. Wenn man also bis zur Marke 1 Blut aufsaugt und dann Verdünnungsflüssigkeit nachzieht bis zu der am oberen Ende der Ampulle befindlichen Marke 201, so sind in der Ampulle enthalten: 1 Teil Blut auf 199 Teile Ver-

dünnungsflüssigkeit, während das Kapillarrohr einen Teil reiner Verdünnungsflüssigkeit enthält. Die Blutmischung in der Ampulle ist also genau 1:200.

Als Verdünnungsflüssigkeit verwendet nun Miescher nicht mehr einfaches Wasser, sondern die schon früher als besseres und vollkommeneres Aufhellungsmittel angeführte 0,1%ige Lösung von Natrium carbonicum purum. Diese Flüssigkeit löst auch die Stromata der Erythrozyten vollständig und bringt dadurch eine möglichst klare Blutlösung zustande. Sie muß von Zeit zu Zeit, wenn sie sich getrübt hat, erneuert werden. Durch kurzes Schütteln des Mischers wird mittels der Perle eine ganz außerordentlich gleichmäßige Blutlösung hergestellt.

Der Schüttelmischer ist aber auch für andere als die oben angeführte Verdünnung 1:200 eingerichtet. Eine zweite Marke in der Mitte des Kapillarrohres mit der Bezeichnung $^1/_2$ ermöglicht eine Verdünnung 1:400, eine dritte Marke am Ende des zweiten Drittels der Kapillare läßt eine Verdünnung 1:300 herstellen.

Die Abmessung der zu verwendenden Blutmenge geschieht genau in derselben Weise, wie ich es für die beim Apparate von Gowers beschriebene Kapillare angegeben habe. Miescher hat, um eine Korrektur zu ermöglichen, wenn man um ein Kleines zu viel oder zu wenig aufgesogen hat, bei jeder Marke noch mehrere Nebenmarken angebracht. Der Raum zwischen der Hauptmarke und der nächsten Nebenmarke oder zwischen zwei Nebenmarken beträgt genau $^1/_{100}$ des Inhalts der ganzen Kapillare; man könnte also ein solches Plus oder Minus bei der Berechnung zur Geltung bringen. Ich glaube jedoch, daß diese Nebenmarken ganz überflüssig sind, und verwende sie nie; durch die früher beschriebene Methode des „Abstreifens" gelingt es mir stets, die Blutsäule mit aller nur möglichen Genauigkeit auf die Hauptmarke einzustellen, und so kann ich die bei der Berechnung unbequem werdenden Nebenmarken ohne weiteres entbehren.

Die zweite Umgestaltung betrifft das Gefäß G (jetzt M oder M'), welches allerdings nun nicht mehr zur Mischung verwendet wird, da diese bereits im Schüttelmischer hergestellt wurde, und daher jetzt „Kammer" heißen möge. Jedem Apparate sind zwei Kammern beigegeben, die eine von 15 mm, die andere von 12 mm Höhe. Die äußere Form und Bauart der Kammer ist die gleiche wie beim Appa-

rate von Fleischl, doch ist das linke und das rechte Ende durch Metallfüllungen ausgeschaltet und nur die Mitte bleibt in einer Breite von 6—7 mm frei. Es ist auf diese Weise der dünnste und der dickste Anteil des Keiles unterhalb der Kammer der Beobachtung entzogen, nur etwa die Hälfte jener Ausdehnung, die beim alten Gefäß sichtbar war, kommt zur Beobachtung, und in diesem Bezirke fällt der Färbungsunterschied zwischen links und rechts wirklich gar nicht mehr ins Gewicht. Man merkt ihn einfach nicht, das Gesichtsfeld erscheint auch über dem Keile durchaus gleichmäßig rot gefärbt. Die Scheidewand der beiden Kammerhälften ragt etwa um $^1/_2$ mm über den Kammerrand empor, und diese Leiste hat den Zweck, einerseits das Zusammenfließen der Flüssigkeiten in beiden Kammerhälften zu verhindern, andererseits als Stütze für ein dickes, geschliffenes und in seiner Mitte mit einer auf die Leiste passenden Rinne versehenes Deckglas zu dienen. Durch Verwendung dieses Deckglases, das horizontal von der Seite her über die Kammer geschoben wird, nachdem man die beiden Kammerhälften mit den ihnen zukommenden Flüssigkeiten bis zur Bildung eines konvexen Oberflächenmeniskus übermäßig gefüllt hat, wird eine genaue Einhaltung der Kammerhöhe und eine vollkommen ebene obere Abgrenzung der Flüssigkeitssäule erreicht.

Das sind zwei Vorteile, die immerhin für die Genauigkeit der Bestimmung in Betracht kommen. Endlich ist für jede Kammer noch je eine hülsenförmige Blende mit einem 4 mm breiten Schlitz beigegeben, welche bestimmt ist, über das Deckglas in der Weise aufgesetzt zu werden, daß die Längsachse ihres Schlitzes senkrecht auf der Scheidewand der beiden Kammerzellen steht. Dadurch wird die zur Beobachtung kommende rote Fläche in beiden Kammerzellen auf eine Breite von 4 mm eingeschränkt. Einen anderen Zweck haben die Blenden wohl nicht, und ich für meine Person muß sagen, daß sie mir unangenehm sind und die Genauigkeit meiner Ablesungen beeinträchtigen. Ich fühle mich wesentlich sicherer und bekomme viel geringere Differenzen bei den Vergleichsablesungen heraus, wenn ich die ganze Breite der neuen Kammerzellen (also 7 mm) beobachte, als bei Verwendung der Blende. Ich habe gesehen, daß auch Andere dieselbe Empfindung haben wie ich und halte die Blende für durchaus entbehrlich, wenn nicht für schädlich. Ich verwende sie auf Grund meiner Erfahrungen nie.

Was nun endlich die Eichung des Keiles betrifft, so ist sie dadurch auf exakte und wirklich wissenschaftliche Basis gestellt, daß sie nicht nach dem vagen Begriffe „normales Blut", sondern nach Originalhämoglobinlösungen erfolgt ist, und zwar durch Miescher selbst, beziehungsweise durch seinen Mitarbeiter und Nachfolger in der Ausgestaltung des Apparates, Veillon. Leider ist aber wieder nur ein Apparat so geeicht worden und dieser dient jetzt wieder als „Normalapparat", indem die Keile aller in den Handel kommenden Apparate durch Vergleich mit dem Keile dieses einen Apparates geeicht werden. Wenn auch für den neuen Apparat nur ganz besonders in ihrer Färbung gelungene Keile in Verwendung gezogen werden, so ist diese „indirekte" Eichung doch wieder ein Mangel und eine Fehlerquelle, die vermieden werden könnte.

Die Skala am Rahmen des Keiles zeigt dieselbe Einteilung wie beim alten Hämometer, und zwar, wie es scheint, nur deshalb, weil jedem Fleischl-Miescherschen Apparat auch noch ein Mischgefäß und Kapillaren zur Vornahme der Hämoglobinbestimmung nach der alten Methode von Fleischl beigegeben sind. Verwendet man die Methode nach Miescher, so haben die abgelesenen Zahlen, etwa 30, 50 oder 80, eine ganz andere Bedeutung als die von 30, 50 oder 80% des „normalen" Hämoglobingehaltes. Der ihnen entsprechende Hämoglobinwert muß erst durch Rechnung mittels einer jedem Apparate beigegebenen „Kalibrierungstabelle" gewonnen werden und kann dann ohne weiteres in „Grammen Hämoglobin auf 100 cm³ Blut" zum Ausdruck gebracht werden.

Prinzip der Methode.

Das Prinzip der Methode ist sonach folgendes: Ich bereite mir je nach dem schätzungsweise anzunehmenden Farbstoffgehalte des Blutes eine Verdünnung von 1:200, 1:300 oder 1:400, mische gründlich, blase den ersten Tropfen aus der Kapillare weg und fülle mit dem übrigen Teile der Mischung die eine Kammerzelle übervoll, während die andere mit Wasser oder $^1/_{10}$%iger Sodalösung gefüllt wird. Dann decke ich mit dem Deckglase ein und lese ab. Die bei wiederholten Kontrollablesungen als Mittelwert gefundene Zahl der Skala wird mittels der Kalibrierungstabelle auf absolute Hämoglobinwerte, ausgedrückt in Gramm auf 100 cm³ Blut, umgewertet. Bezüglich des Vorgehens im einzelnen muß ich noch folgende Bemerkungen machen.

Einzelvorschriften.

Zunächst wird man sich wie beim einfachen Hämometer durch Einbringung von Wasser oder Sodalösung in die eine Kammerzelle überzeugen, ob der Boden wasserdicht schließt. Sodann wählt man die Verdünnung. Grundsatz muß dabei sein, daß man sich bestrebt, diejenigen Teile des Keiles in Verwendung zu ziehen, bei welchen die Ablesung nach den schon oben mitgeteilten Erfahrungen am genauesten ist; das sind also gerade seine mittleren Bezirke. Zunächst wird immer die höhere, 15 mm hohe Kammer in Verwendung gezogen. Bei 15 mm Schichthöhe nun ist für ein Blut von sicher normalem Hämoglobingehalte eine Verdünnung von 1:400 oder 1:300 zulässig, eine Verdünnung von 1:200 wäre durchaus unpraktisch. Denn bei einer Verdünnung von 1:400 wird man unter den gegebenen Verhältnissen etwa den Skalenteil 44 einstellen, bei Verdünnung von 1:300 die Skalenteile 58—60, bei Verdünnung 1:200 hingegen etwa 88. Bei einem Menschen, der ganz gewiß keine Verminderung des Hämoglobingehaltes oder gar eine Erhöhung desselben hat, werde ich also mit voller Beruhigung 1:400 verdünnen; bei einem Menschen aber, der wie die meisten unserer nicht wesentlich anämischen Kranken etwas weniger als den normalen Hämoglobinwert haben dürfte, werde ich die Verdünnung 1:300 wählen; hierbei kann ich so lange bleiben, als der Untersuchte voraussichtlich noch wesentlich m e h r als die Hälfte des normalen Hämoglobingehaltes aufweist. Hat er nach der oberflächlichen Schätzung nur mehr knapp die Hälfte oder sogar weniger, so verdünne ich selbstverständlich 1:200. Ist der Hämoglobingehalt unter 4 g (d. i. also etwa 30% der Norm) gesunken, so komme ich trotz der Verdünnung 1:200 bereits unter den Skalenteil 26 herab, die Ablesung leidet also wieder in einem gewissen Grade an Genauigkeit; es ist für die Werte unter 4 g eine Verdünnung von 1:100 wünschenswert. Eine solche kann man sich nun allerdings mittels des dem Apparate beigegebenen Mischers auf dem gewöhnlichen Wege nicht herstellen. Aber man kann sich helfen, wenn man geschickt ist. Man sauge Blut bis zur Marke 1 auf, wische die Spitze der Kapillare ab und sauge ein ganz minimales Luftbläschen in die Spitze der Kapillare, was einem ja sonst ganz gegen den Willen gar nicht so selten passiert; und nun tauche man die Spitze in einen neuen Tropfen und sauge mit besonderer Vorsicht wieder so lange Blut auf, bis das untere Ende des Luftbläschens genau mit der Marke 1 zusammenfällt. Jetzt reinige

a) Wahl der Verdünnung.

man rasch die Spitze und sauge ebenso rasch die Sodalösung nach. Hat man geschickt und rasch gearbeitet, so kann es einem wirklich gelingen, daß man beide Blutsäulen genau abgemessen hat und daß keine Gerinnung eintrat; dann hat man nur die Aufgabe, durch vollkommen vertikale Stellung des Mischers beim Aufsaugen der Sodalösung das kleine Luftbläschen an die Oberfläche zu bringen und so wieder unschädlich zu machen, und eine Verdünnung von 1:100 ist hergestellt. Das ist aber ein mühsames und gefährliches Vorgehen; man muß seine Saugwerkzeuge schon ganz vorzüglich beherrschen, wenn es nicht mißlingen soll. Es gibt aber noch einen viel einfacheren Weg, den allerdings nur jener gehen kann, der auch einen Thoma-Zeißschen Zählapparat und mit ihm einen Schüttelmischer für die Zählung der roten Blutkörperchen besitzt: dieser hat ja eine Verdünnung von 1:100 als Norm. Allerdings ist der Kubikinhalt der Ampulle vieler Schüttelmischer für die Zählung der roten Blutkörperchen zu klein für die Füllung der einen Kammerzelle, während der Inhalt anderer vollkommen hinreicht; man müßte auf diesen Punkt schon bei der Auswahl der Schüttelmischer für Zählung der roten Blutkörperchen Rücksicht nehmen, indem man einen mit möglichst großer Ampulle wählt. Aber auch der Inhalt der kleineren Zeißschen Schüttelmischer reicht hin zur Füllung der niedrigeren Kammer von 12 mm Höhe; man müßte in einem solchen Falle also diese verwenden, und auch das bedeutet bei sehr niedrigem Hämoglobingehalte immerhin schon einen merklichen Vorteil. Kann man eine Verdünnung von 1:100 anwenden, so kommen selbst bei einem Gehalte von zwei Gewichtsprozent Hämoglobin (14 bis 15% der Norm) unter Anwendung der höheren Kammer noch die Skalenteile 25—26 in Gebrauch; für noch niedrigere Werte allerdings, mit denen man wohl selten zu arbeiten hat, würde sich eine Verdünnung von 1:50 empfehlen, die man dann mit dem Zeißschen Schüttelmischer durch denselben Kunstgriff herstellen könnte, wie die hundertfache mittels des Miescherschen Melangeurs, oder aber ebenso wie noch geringere Verdünnungen mittels eines genügend großen Zeißschen Schüttelmischers für Leukozytenzählung. Ein solches Riesenexemplar dürfte aber wohl allerdings nicht im Handel sein.

So gelingt es bei praktischer Ausnützung aller gebotenen Hilfsmittel tatsächlich immer, jene Teile des Keiles zur Beobachtung zu bringen, wo eine gute Übereinstimmung von Keil und

Blutlösung zu erwarten und daher eine genaue Ablesung ermöglicht ist.

b) Herstellung der Blutlösung.

Bei der Herstellung der Blutlösung hat man noch auf einen kleinen Umstand zu achten. Es kommt manchmal vor, daß hinter der am Boden der Ampulle liegenden Perle eine Luftblase von der Blutlösung eingeschlossen wird, welche dann, wenn sie innerhalb der Ampulle bleibt, eine Ungenauigkeit des Mischungsverhältnisses bedingt. Man kann den Einschluß einer solchen Luftblase leicht vermeiden, wenn man, wie sich das auch aus anderen Gründen empfiehlt, gleich beim Aufsaugen der Sodalösung den annähernd vertikal gestellten Schüttelmischer um seine Längsachse in kleinen Exkursionen hin- und herdreht; dann fällt die Perle sicher ohne anhaftende Luftblase in die Flüssigkeit. Hat man einmal ungeschickterweise eine Luftblase eingeschlossen, so gelingt es doch häufig noch, sie unschädlich zu machen, indem man nun beim Weitersaugen den Schüttelmischer wirklich ganz senkrecht stellt; dann kommt die Luftblase an die Oberfläche der Flüssigkeitsschichte und wird zuerst in die Verjüngung des Rohres eingesogen; hiedurch wird dann auch jeder in Betracht kommende Fehler vermieden.

c) Füllung der Kammer.

Nach vollzogener Mischung erfolgt die Füllung der bisher leeren Kammerzelle in der Weise, daß man zunächst die kleine Menge von reiner Sodalösung, welche die Kapillare füllt, herausbläst, dann den Schlauch abnimmt und ihn über das spitze Ende der Kapillare zieht. Hierauf wird durch das weitere Endstück des Schüttelmischers die Blutlösung in die Kammer gefüllt bis zur Bildung eines konvexen Meniskus. Mit Wasser oder Sodalösung füllt man dann ebenfalls im Überschuß die andere Kammerhälfte, nimmt hierauf das geriefte Deckglas und schiebt dasselbe unter leichtem Druck von der Seite her derart über die Kammer, daß die Riefe die vorspringende Leiste der Kammerscheidewand in sich aufnimmt. War die Füllung der Kammerzellen eine genügende, so können keine Luftblasen in denselben enthalten sein und der Apparat ist fertig zur Beobachtung, welche genau in derselben Weise und unter Einhaltung derselben Vorsichtsmaßregeln, wie sie beim alten Hämometer besprochen wurden, vorgenommen wird. Der Mittelwert aus sechs bis zehn Ablesungen wird dann der Berechnung zugrunde gelegt.

d) Kontrolle der Ablesung.

Die niedrigere Kammer von 12 mm Höhe dient zur eventuellen Vornahme von Kontrollbestimmungen. In einer Schichte

von 12 mm Höhe erscheint die Blutlösung naturgemäß heller als in einer Schichtendicke von 15 mm, und zwar um ein Fünftel heller, entsprechend dem Unterschied in der Schichtendicke. Man wird also bei Untersuchung einer und derselben Blutlösung mittels der höheren und der niedrigeren Kammer Werte bekommen, von denen der letztere um ein Fünftel kleiner sein muß als der erstere. Und diesen Umstand kann man zur Kontrolle der erst gemachten Ablesung verwenden. Meines Erachtens ist eine solche Kontrolle bei Anwendung genügender Sorgfalt bei der Ablesung in der zuerst verwendeten Kammer nicht gerade notwendig, aber immerhin kann sie in Fällen, wo es auf eine ganz besondere Sicherheit der Bestimmung ankommt, verwendet werden. Man geht dann so vor, daß man nach durchgeführter Untersuchung in der höheren Kammer die Blutlösung aus dieser mittels eines Tropfröhrchens in die eine Zelle der niedrigeren Kammer überträgt und nach Herstellung des Präparates nun neuerlich sechs bis zehn Ablesungen durchführt. Ist der so erhaltene Wert um ein Fünftel niedriger als der erste, so ist das eine weitere Gewähr für die Richtigkeit beider Ablesungen. Abweichungen um ein bis zwei Skalengrade sind natürlich nicht zu vermeiden.

e) Berechnung.

Die Berechnung des Endresultates ist mittels der dem Apparate stets beigegebenen Kalibrierungstabelle auch eine sehr einfache Aufgabe. Die Tabelle enthält in der ersten Reihe (Sc), von zwei zu zwei fortschreitend, die Reihe der Skalenteile, und in der zweiten Reihe (H) die den zugehörigen Skalenteilen entsprechende absolute Hämoglobinmenge in Milligramm auf 1000 cm³ der untersuchten Blutlösung bei Verwendung der höheren Kammer von 15 mm Höhe. Hat man also z. B. bei Einhaltung dieser Bedingungen an der Skala die Zahl 56 abgelesen, so sucht man sich in der Tabelle unter Sc diesen Wert und findet daneben in der zweiten Kolonne die zugehörige Hämoglobinzahl, in unserem Falle 447. Das heißt nun: in 1000 cm³ der untersuchten Flüssigkeit, welche eine starke Verdünnung des untersuchten Blutes darstellt, sind 447 mg Hämoglobin enthalten. Wir wollen aber den absoluten Hämoglobingehalt im untersuchten Blute selbst, und zwar in Gramm auf 100 cm³, also in Gewichtsprozenten, ausdrücken. Wir haben sonach zuerst die gefundene Hämoglobinzahl 447 mit dem reziproken Werte der Verdünnung, also z. B. mit 200 zu multiplizieren, das ergibt 89.400 mg Hämoglobin in 1000 cm³ des untersuchten Blutes; um das auf Gramm in

100 cm³ umzurechnen, muß ich durch 10.000 dividieren. Das Resultat unserer Untersuchung ist also: Das Blut enthält 8,94 g Hämoglobin auf 100 cm³, also 8,94 Gewichtsprozent Hämoglobin. Wäre bei gleicher Ablesung die Verdünnung 1:300 gewesen, so wäre das Resultat $\frac{447 \times 300}{10.000}$, also 13,41 Gewichtsprozent; und bei einer Verdünnung von 1:400 lautete das Ergebnis: $\frac{447 \times 400}{10.000} = 17,88$ Gewichtsprozent.

Die dieser Berechnung zugrunde gelegte Kalibrierungstabelle entspricht einem Hämometer von der Marke 7,65, in welcher Ausführung die überwiegende Mehrzahl der Instrumente gehalten ist. Für die Marken 7,85 oder 7,5 wird eine etwas abweichende Tabelle zur Verwendung kommen. Bei Gebrauch der niedrigeren, 12 mm hohen Kammer sind die erhaltenen Werte mit $^5/_4$ zu multiplizieren.

Reinigung des Apparates.

Nach erfolgtem Gebrauche geschieht die Reinigung des Apparates in folgender Weise. Die Kammer wird zerschraubt und in allen ihren Teilen mit Wasser gründlich gereinigt und hernach sorgfältig, namentlich auch im Inneren der Zellen, getrocknet, worauf man die einzelnen Teile wieder zusammenschraubt. Die Mischpipette bedarf einer besonders sorgfältigen Reinigung. Man bläst zunächst mittels eines Kautschukdoppelgebläses, das man nach Entfernung des zur Pipette gehörigen Schlauches an die Spitze der Kapillare angesetzt hat, den Rest der Blutlösung durch das kurze und weite Ende des Rohres aus der Birne heraus, nimmt das Gebläse ab, setzt den Saugschlauch wieder an das ihm zukommende obere Ende des Apparates an, saugt reines Wasser bis über die obere Marke in den Apparat und schüttelt. Der Schlauch wird neuerlich abgenommen, das Gebläse am anderen Ende angesetzt, das Wasser herausgeblasen. Dann wird noch einmal Wasser eingesogen und ausgeblasen. Hierauf saugt man in die Pipette absoluten Alkohol ein. Diesen stellt man sich praktischerweise selbst her, indem man den konzentriertesten käuflichen Alkohol (etwa 98 oder 99%) mit einem beträchtlichen Volumen gebrannten Kupfervitriols versetzt. Dieses erzeugt man sich selbst, indem man kristallisiertes Kupfersulfat in einer Porzellanschale über dem Bunsenbrenner unter Umrühren so lange erwärmt, bis die Kristalle zerfallen und das entstandene Pulver eine weiße Farbe angenommen hat. Das Kupfervitriol hat durch

diesen Vorgang sein Kristallwasser verloren und ist nunmehr ungeheuer stark hygroskopisch, da es bestrebt ist, wieder Kristallwasser aufzunehmen. Gibt man nun solches gebranntes Kupfervitriol in eine fest verschlossene Flasche konzentrierten Alkohols und schüttelt, so zieht das Kupfersulfat alles Wasser aus dem Alkohol an sich und nimmt hierbei wieder eine bläuliche Farbe an. Auf diese Weise kann man sich durch lange Zeit den Alkohol annähernd absolut erhalten. Man muß nur von Zeit zu Zeit wieder gründlich durchschütteln. Solcher durch Abstehen geklärter „Kupfer-Alkohol" wird nun in die Birne eingesogen und der Apparat einige Male geschüttelt, dann bläst man den Alkohol wieder heraus (wie oben), saugt nochmals nach, schüttelt wieder und entfernt den Alkohol sodann, um jetzt den Apparat durch Aufsaugen mit reinem Schwefeläther zu füllen. Bläst man dann diesen heraus und treibt nachher nur noch einen Augenblick mit dem Gebläse Luft durch den Apparat, so ist er vollkommen rein und trocken, vorausgesetzt, daß durch die vorherige Alkoholbehandlung alles Wasser entfernt wurde. Wenn der Apparat trocken ist, so muß die Perle im Inneren der Glasbirne bei jeder Drehung den tiefsten Punkt einnehmen und das Innere der Kapillare muß durchaus spiegelblank erscheinen. In den Ansatzschlauch soll niemals Wasser, noch weniger Alkohol oder Äther gelangen.

Vorzüge des Apparates.

Der Apparat von Miescher stellt gegenüber dem alten Hämometer in jeder Beziehung einen ganz ungeheuren Fortschritt dar, der meines Erachtens bisher viel zu wenig gewürdigt wurde. Ich kenne kein besseres und für alle Möglichkeiten gleich gut brauchbares Instrument zur Hämoglobinbestimmung. Es ist wohl nicht notwendig, auf seine Vorzüge nochmals im einzelnen näher einzugehen, da diese Dinge schon bei der Beschreibung der Neuerungen des Apparates genügend betont worden sind. Das Allerwesentlichste scheint mir die Änderung des Prinzipes in der Eichung und Berechnung zu sein. Wir kommen dadurch allerdings um die bequemen und uns lieb gewordenen Zahlen 100, 80, 50 usw., dafür rechnen wir aber wirklich mit Hämoglobin und nicht mit Prozenten eines ganz vagen „Normal-Hämoglobingehaltes", der ja erst durch systematische und lange fortgesetzte Beobachtungen mittels einer wirklich brauchbare absolute Werte gebenden Methode im Laufe der Zeit festgestellt werden müßte!

Ich muß da gleich auf einen Umstand hinweisen, der mir bei vergleichender Untersuchung mit dem alten Hämometer und dem Miescherschen Apparate in letzter Zeit aufgefallen ist.

Ursprünglich verwendete ich aus lieber, alter Gewohnheit für Hämoglobinbestimmungen bei anämischen oder annähernd normal hämoglobinreichen Blutarten nur den alten Hämometer und sparte den Miescherschen Apparat für jene Fälle auf, welche abnorm hohe Hämoglobinwerte zeigten. Davon hatte ich mich nämlich bald überzeugt, daß auf Zahlen, die über 100 hinausgehen, beim alten Hämometer nicht der mindeste Verlaß sei; für Werte, die über 120 hinausgehen, reicht ja übrigens gar nicht mehr seine Skala aus. Für diese Höhenlagen ist ohne Zweifel der Apparat von Gowers dem Hämometer vorzuziehen; die einzige, verläßliche Bestimmung gibt aber das Miescher-sche Instrument, da es bei diesem ermöglicht ist, durch Verdünnung auf $^1/_{400}$ und eventuelle Verwendung der niedrigeren Kammer selbst bei Werten von 24—25 Gewichtsprozenten Hämoglobin, wie sie bei Polyzythämien vorkommen, noch mittlere Partien des Keiles zur Einstellung zu verwenden und damit eine genaue Ablesung zu erreichen. Erst vor gar nicht langer Zeit fing ich an, auch gewöhnliche Blutarten und Anämien mittels des Miescherschen Apparates zu untersuchen, und da kam ich auf eine ganz verblüffende Entdeckung: Mit dem Miescherschen Apparate finde ich ganz konstant wesentlich höhere Werte als mit dem alten Hämometer. Und noch mehr. Ich bestimmte mit dem Miescherschen Apparate nach der alten Methode von Fleischl mittels der beigegebenen Kapillare und des alten Mischgefäßes und bestimmte zugleich mit demselben Instrumente nach dem neuen Verfahren, und ich bekam dieselben Differenzen wie zwischen den anderen Hämometern und dem Miescherschen Apparate! Bei der oben einmal angeführten Prüfung der fünf Hämometer unserer Klinik wurde auch der Miescher'sche Apparat mit einbezogen, und bei Verwendung des alten Fleischlschen Instrumentariums zeigte er 58% der Norm an, während die anderen Instrumente 50—57% gegeben hatten. Das ist also gar keine wesentliche Abweichung. 58% der Norm entsprechen, 14 Gewichtsprozente als normal vorausgesetzt, einem absoluten Hämoglobingehalte des Blutes von 8,12 Gewichtsprozenten. Die sofort vorgenommene Bestimmung nach dem Mie-scherschen Verfahren ergab aber mit demselben Apparate

Vergleiche zwischen dem alten und dem neuen Hämometer.

10,38 Gewichtsprozente, einen Wert, der hinwieder in Prozente der Norm umgerechnet, rund 74% entspricht. Zwischen zwei mit demselben Instrumente vorgenommenen Bestimmungen nach den beiden möglichen Methoden also bei demselben Blute ein Unterschied von 16%! Ähnliche oder etwas geringere Differenzen habe ich seither immer wieder bei derartigen Vergleichsbestimmungen bekommen, so daß man aus ihnen, vorausgesetzt, daß die Werte beider Methoden annähernd richtig sind, einen normalen Hämoglobingehalt des Blutes von 15—16 g anstatt von 13—14 g ableiten müßte.

Durch solche Unterschiede muß man natürlich stutzig werden, und ich halte es für ein dringendes Gebot, daß man auf Grund dieser Beobachtungen endlich einmal daran geht, Ordnung zu schaffen und eine genügend exakte Ausführung der Instrumente in Angriff zu nehmen, um sie nicht allesamt in Mißkredit zu bringen.

Mängel auch des neuen Apparates.

Was speziell den Apparat von Fleischl-Miescher betrifft, so hat auch er in der Ausführung noch immer seine Mängel. Zunächst einmal halte ich es für unstatthaft, daß immer wieder nach einem „Normalinstrumente" geeicht wird; das mindert ohne Zweifel das Vertrauen. Jedes Instrument müßte von fachkundiger und durchaus verläßlicher Seite für sich mit Originalhämoglobinlösungen geeicht werden, und man müßte speziell darauf Rücksicht nehmen, daß die Eichung insbesondere in den zumeist in Verwendung zu ziehenden mittleren Teilen des Keiles eine durchaus genaue sei. Die Verbindung des Miescherschen Instrumentariums mit der alten Kapillarpipette und dem alten Mischgefäße nach Fleischl stört gewiß nur, sie wäre überhaupt wegzulassen, wie das schon Veillon verlangt hatte; und dann hat es auch gar keinen Zweck mehr, die Skala so einzuteilen, wie sie das alte Hämometer fordert. Sie wäre direkt auf absolute Hämoglobinwerte zu eichen; es wäre nicht im mindesten schade, wenn man sich die alte liebe Schlamperei, Hämoglobinwerte in Prozenten einer mehr oder weniger fabulösen Norm auszudrücken, einmal gänzlich abgewöhnte!

Ich habe bisher nur von den gegenwärtig bei uns tatsächlich allgemeiner in Gebrauch stehenden Apparaten zur Hämoglobinbestimmung gesprochen, und muß nun doch noch ein paar Worte über ältere und neuere Apparate, welche demselben Zwecke

dienen, anfügen. Die älteren Apparate von Hayem, Bizzozero, Henocque und Malassez allerdings sind durch die im vorstehenden besprochenen Instrumente vollkommen verdrängt worden, und ich begnüge mich daher, nur die Namen ihrer Autoren in Erinnerung gebracht zu haben. Dagegen sind noch drei neuere Methoden vorgeschlagen worden, welche sich allerdings neben den bisher üblichen nicht allgemeinere Geltung zu verschaffen vermochten, aber doch hie und da in Verwendung sind. Ich gebe daher wenigstens eine Skizze der ihnen zugrunde liegenden Prinzipien und ihrer Anwendungsweise.

Neuere Hämoglobinometer

Zwei von ihnen stammen aus England und Amerika und bemühen sich mit mehr oder weniger Glück, das kolorimetrische Prinzip des Hämometers zu verbessern; der eine Apparat stammt von Oliver, der andere von Dare. Beide vermeiden den kontinuierlich sich verjüngenden Keil und ersetzen ihn durch eine Serie von verschieden stark rot gefärbten ebenen Glasplatten, bei deren Herstellung es allerdings leichter sein mag, den doch nicht ganz übereinstimmenden Farbenton verschieden konzentrierter Hämoglobinlösungen wiederzugeben.

a) von Oliver.

Der Hämoglobinometer von Oliver besitzt eine der Fleischlschen durchaus ähnliche Kapillarpipette. Aus dieser spült man das Blut mittels einer in einem Tropfröhrchen abgemessenen Wassermenge in das Mischgefäß, das wiederum einem Fleischlschen Mischgefäße ohne mittlere Scheidewand entspricht, und deckt die hiedurch genau angefüllte Kammer von der Seite her mit einem Deckglase ein. Die so hergestellte Blutlösung wird nun bei künstlicher Beleuchtung oder weniger gut auch bei Tageslicht mit einer Serie von zehn in zwei Rahmen untergebrachten runden Glasplatten verglichen, welche von 10 zu 10 auf Prozente des „normalen“ Hämoglobingehaltes geeicht sind. Stimmt die Färbung der Blutlösung mit der Färbung einer der Glasplatten gut überein, so ist die Bestimmung vollendet. Ist dies nicht der Fall, so wird die genauere Bestimmung mit Hilfe von Zulageplättchen, welche einem Mehr von 5% des „normalen“ Hämoglobingehaltes entsprechen, vermittelt, und zwar in folgender Weise. Es liege z. B. die Färbung der Hämoglobinlösung zwischen 50 und 60. Dann lege ich auf die 50% anzeigende Glasplatte eines der Zulageplättchen; hiedurch ist der Wert dieser Platte auf 55% erhöht. Ich vergleiche nun die Blutlösung mit dieser Doppelplatte; ist die Färbung jetzt übereinstimmend, so

beträgt der Hämoglobingehalt 55%; ist die Färbung der Blutlösung etwas blässer als die Färbung der Doppelplatte, so liegt der Hämoglobingehalt zwischen 50 und 55%, kann also annähernd auf 52,5 geschätzt werden. Analog nimmt man den Wert 57,5 an, wenn die Färbung der Blutlösung sich als etwas dunkler als die der Doppelplatte erweist.

Der Hämoglobinometer von Dare verwendet zum Vergleiche in ähnlicher Weise verschieden gefärbte runde Glasplättchen, die in großer Zahl auf einer runden Scheibe angebracht sind und analog wie die verschiedenen Linsen bei einem Augenspiegel durch Drehung der Platte bequem ins Gesichtsfeld gebracht werden können. Hingegen wird das Blut überhaupt nicht verdünnt oder gelöst, sondern ganz unverändert in dünnster Schichte zwischen zwei Glasplatten, welche einen kapillären Raum miteinander einschließen, zur Vergleichung herangezogen. Die eine der Glasplatten ist ganz durchsichtig, die andere etwas matter, durchscheinend; die Füllung des Kapillarraumes erfolgt automatisch, wenn man den einen Rand des Plattenpaares einfach an den Bluttropfen bringt. Die Beobachtung muß rasch, vor Eintritt der Gerinnung geschehen und erfolgt bei künstlichem Lichte, ohne daß aber eine Abhaltung des Tageslichtes notwendig wäre. Der Apparat wird von manchen amerikanischen Autoren (Cabot) dem Fleischlschen Hämometer vorgezogen. b) von Dare.

Eine Umgehung des kolorimetrischen Prinzips stellt der Hämophotograph von Gärtner dar.*) Gärtners Hämophotograph.

Das menschliche Auge ist für Helligkeitsunterschiede empfindlicher als für Farbendifferenzen. Daher benützt Gärtner anstatt eines gefärbten Keiles einen „photographischen" Keil, an den sich seitlich eine von 0—100 reichende Skala anschließt. Er stellt sich mit Hilfe einer Kapillarpipette von 0,02 cm^3 Gehalt und eines auf 1 und 2 cm^3 geeichten einfachen Tropfröhrchens eine wässerige Blutlösung bekannter Konzentration dar und bringt von dieser 1 cm^3 in eine durch eine Deckplatte eben abgeschlossene Kammer, von deren Boden ein kleines Segment mit einem unveränderlichen, mattgrau gefärbten Papierstreifen unterklebt ist. Der ganze Apparat ist in einem Kopierrahmen untergebracht; einige Blatt photographischen Papieres und eine mit einem runden Loch und einem randständigen rechtwinkeligen Ausschnitte versehene Metallblende vervollständigen das Instrumentarium. Unter Keil

*) Erhältlich bei R. Siebert, Wien, IX. Garnisongasse.

und Kammer wird nun in den Kopierraum ein Blatt des photographischen Papieres gebracht und das ganze wird so lange bei diffusem hellem Tageslichte (nicht direkt Sonne) exponiert, bis die Färbung des unterhalb der Blutlösung gelegenen Teiles des photographischen Papieres ungefähr gleich geworden ist jener des kleinen mit unveränderlichem Papier unterklebten Abschnittes. Die Belichtung soll nicht länger als 15 Minuten dauern. Sodann wird das photographische Papier dem Rahmen entnommen und derart in drei Teile zerschnitten, daß der eine Teil das Bild von Keil und Skala, der andere Teil das Bild der nicht unterklebten Kammerhälfte trägt. Der dritte Teil wird weggeworfen. Die beiden ersten Teile aber werden derart unter den runden Ausschnitt der Blende gebracht, daß in der einen (linken) Hälfte derselben das Kammerbild, in der anderen (rechten) das Keilbild sichtbar wird; bei diesem Vorgange erscheint ein Teil der Skala in dem seitlichen rechtwinkeligen Ausschnitte der Blende. Nunmehr wird das Keilbild so lange in der Längsrichtung neben dem Kammerbilde verschoben, bis beide bei künstlicher Beleuchtung (nicht Auer) oder bei mattem Tageslicht vollständige Helligkeitsübereinstimmung zeigen. Sodann wird der gerade im rechtwinkeligen Ausschnitte erscheinende Skalenteilstrich abgelesen und aus ihm mittels einer beigegebenen Tabelle der Hämoglobingehalt in Prozenten der „Norm" berechnet. Bei nicht zu sehr hämoglobinarmem Blute werden 2 cm^3 Wasser zur Herstellung der Blutlösung verwendet, und dann gelten die erhaltenen Hämoglobinwerte unverändert; bei sehr niedrigem Hämoglobingehalte verwendet man nur 1 cm^3 Wasser zur Blutverdünnung und muß dann die bei der Berechnung erhaltenen Hämoglobinwerte durch zwei dividieren.

Von den drei zuletzt beschriebenen Apparaten bewegen sich die von Oliver und Dare angegebenen, wie aus deren Beschreibung hervorgeht, in denselben Bahnen wie der Hämometer von Fleischl, und es mag ein müßiger Streit sein, ob sie vor ihm wirklich den Vorzug verdienen; in einigen Punkten stellen sie Verbesserungen dar, in anderen erscheinen sie mangelhafter und beide kleben an dem vagen Begriff des „Normalblutes". Ich meine also, daß sie zum mindesten keinen prinzipiellen Fortschritt bedeuten. Der Apparat von Gärtner setzt Helligkeitstöne an Stelle der Farbentöne. Das wäre in gewissem Sinne ein Vorteil; aber dieser wird durch sehr viele Unbequemlichkeiten erkauft, das ganze Verfahren ist langwierig und von äußeren Umständen, ins-

besondere von der Freundlichkeit des Himmels im höchsten Grade abhängig, außerdem bietet es in seiner Ausführung keinerlei Gewähr für eine besondere Genauigkeit der Blutverdünnung oder Ablesung und bleibt wie die früheren Methoden bei der Bewertung nach Prozenten eines Normalgehaltes. Dadurch wird der eine Vorteil wieder mehr als aufgewogen, und ich finde es begreiflich, wenn der Apparat sich nicht einzubürgern vermag.

Überblicken wir nunmehr die ganze Hämometrie und fassen wir die Ergebnisse unserer vorangehenden Betrachtungen zusammen, so kommen wir etwa zu den folgenden Schlüssen.

Wir brauchen die Hämometrie in der Praxis sowohl wie in der Klinik, nicht nur, weil an und für sich der Mangel oder Reichtum an Hämoglobin als einem doch gewiß im höchsten Grade lebenswichtigen Bestandteile des Blutes für den Arzt unter den mannigfachsten Verhältnissen von Bedeutung sein muß, sondern vor allem auch deshalb, weil seine Verminderung (und Vermehrung) eine immer belangreiche Teilerscheinung bei den verschiedenartigen komplizierten Veränderungen des Gesamtblutes darstellt und eines der wertvollsten aus der Reihe von Symptomen ist, welche in ihrer Gesamtheit eine exakte Differentialdiagnose der meisten Erkrankungen des Blutes und der blutbereitenden Organe ermöglichen. Der Praktiker stellt bei seinen Untersuchungen keine sehr hohen Anforderungen an die absolute Genauigkeit, ihm kommt es nur darauf an, untereinander gut vergleichbare Werte zu erhalten, unbekümmert darum, ob der normale Hämoglobingehalt des Blutes 13 oder 14 Gewichtsprozente beträgt. Aber auch sein Instrument muß so beschaffen sein, daß er vor jedem groben Irrtume und Fehlschusse bewahrt bleibt. Die Klinik hingegen hat die Aufgabe, nicht nur diagnostisch brauchbare Werte zu erheben, sondern auch Grundlagen für die wissenschaftliche Forschung zu liefern. Sie wird sich also mit Ergebnissen von einer wenn auch verläßlichen relativen Richtigkeit nicht zufrieden geben dürfen, sondern bestrebt sein müssen, immer nur die besten und wissenschaftlich am sichersten begründeten Methoden zu verwenden, soweit sie einem allgemeineren Gebrauche überhaupt zugänglich sind.

Ich möchte daraus den Schluß ziehen, daß zunächst ein für den Praktiker hergerichtetes, bequem zu handhabendes Instrument, das auf den anerkannt besten Prinzipien beruht und des-

wegen trotz einfacher Mittel einen verläßlichen Grad von Genauigkeit erreicht, seine Daseinsberechtigung hat. Keiner der jetzt in Gebrauch stehenden Apparate entspricht vollkommen den Anforderungen, welche ich an ein solches Instrument stellen müßte. Man sollte meines Erachtens das Beste aus allen Prinzipien zusammentragen und sich so bemühen, aus allen bisher konstruierten Apparaten Nutzen zu ziehen.

In der Form und im Prinzipe würde ich mir ein solches Hämoglobinometer für den Praktiker am ehesten dem Gowersschen Apparate ähnlich vorstellen. Nur müßte an die Stelle der im Laufe der Zeit veränderlichen Vergleichsflüssigkeiten ein unveränderliches, am besten festes Medium treten, etwa eine Glasplatte, welche in ihrer Färbung mit möglichster Genauigkeit einer — sagen wir — 1%igen Lösung eines 14 Gewichtsprozente Hämoglobin enthaltenden Blutes, beziehungsweise also einer 0,14%igen Oxyhämoglobinlösung entspräche. Es könnten wieder zwei Platten, eine für natürliches, eine für künstliches Licht erzeugt werden. Sind die Platten jedesmal nach einer Originalhämoglobinlösung geeicht, dann könnte man ja in diesem Falle für die Ablesungsskala an dem Mischgefäß des Blutes die dem Praktiker geläufige Einteilung von 1—100 anbringen, wobei dann allerdings die Zahl 100 einem ganz präzisen Werte entspräche. Das Mischgefäß selbst könnte man mit planparallelen Wänden versehen, ihm in toto die Dicke der Glasplatte geben und oben könnte man es mit einem Glasstoppel zur Ermöglichung einer genauen Mischung versehen. Die Skala brauchte über 100 nicht hinauszugehen und der Glasstoppel könnte gleich oberhalb dieser Marke sitzen. Dagegen würde es sich empfehlen, an der Kapillarpipette noch eine Marke für 10, eine für 30 und eine für 40 mm³ anzubringen, um bei sehr hämoglobinreichem Blute nur die Hälfte in Gebrauch nehmen zu können, während man sehr hämoglobinarmes Blut durch Aufsaugen bis zu den höheren Marken in schwächerer Verdünnung untersuchen könnte. Zur Verdünnung könnte eine $^1/_{10}$%ige Sodalösung mit Vorteil verwendet werden. Wäre das Ganze nun noch auf einen kleinen Metallrahmen mit weißem Hintergrund so montiert, daß sich zwischen Glasplatte und Mischgefäß nur eine schmale, dunkle Trennungslinie befindet, so könnte das meines Erachtens ein Apparat werden, der allen Anforderungen eines gewissenhaften Praktikers vollauf zu genügen vermöchte, dabei einfach zu handhaben, bequem zu transportieren wäre und nicht zu viel kostete.

Allerdings wäre die Herstellung und die Eichung der Glasplatten nach Original-Oxyhämoglobinlösungen eine Aufgabe, die nur ein großes und über alle wissenschaftlichen Hilfsmittel und Kräfte verfügendes Institut zu leisten vermöchte. Und auch nur ein solches dürfte die Herstellung dieser Apparate übernehmen, da sonst ohne Zweifel wie bisher minderwertige und unverläßliche Instrumente in den Handel kämen.

Für Klinik und Laboratorium sollte schon jetzt kein anderes Instrument mehr in Betracht kommen, als das zweifellos beste aller unserer Modelle: der Mieschersche Hämometer. Aber auch an diesem würde ich einige Änderungen vorschlagen, da es meines Erachtens ohne Schwierigkeit gelänge, den Apparat noch einwandfreier und verläßlicher zu gestalten. Zunächst müßte die Mieschersche Pipette eine vielfachere Variation der Verdünnung zulassen: nämlich Verdünnungen von 1:50 bis 1:500 (1:50, 1:100, 1:200, 1:300, 1:400, 1:500). Wäre es möglich, alle diese Verdünnungen, ohne daß bei der höchsten Verdünnung eine gar zu geringe Blutmenge in Verwendung kommt, mit einer Pipette zu erreichen, so wäre das gewiß am besten. Wenn nicht, so könnten ja zwei Pipetten beigegeben werden, eine für Verdünnungen von 1:200 bis 1:500, und eine zweite für Verdünnungen von 1:50 und 1:100. Die Höhe der Kammern würde ich bei sonst gleicher Ausführung mit 10 und 15 mm wählen. Jeder Keil müßte tadellos gefärbt, das heißt sorgfältig ausgesucht sein, und die Eichung hätte unbedingt für jeden Keil gesondert mit Hilfe von Originallösungen von Oxyhämoglobin zu geschehen. Jeder Apparat wäre so ein ganz selbständiges Individuum und keinem anderen vollkommen gleich. Insbesondere wäre das größte Gewicht darauf zu legen, daß die Eichung des Keiles in den mittleren Partien mit der größten Sorgfalt erfolge, weil diese Partien womöglich ausschließlich zur Bestimmung Verwendung finden sollen. Um das zu ermöglichen, sind eben die vielfachen Verdünnungsmöglichkeiten und die verschiedenen Kammerhöhen in Aussicht genommen. Die Graduierung hätte direkt in Gewichtsprozenten Hämoglobin zu geschehen, in der Art, daß die abzulesenden Zahlen für eine bestimmte Verdünnung, z. B. $^1/_{200}$ bei Gebrauch der höheren Kammer unmittelbar den absoluten Hämoglobingehalt in Gewichtsprozenten angeben. Bei Verwendung der niedrigeren Kammer wäre der abgelesene Wert mit $^3/_2$ zu multiplizieren, und analog wären andere Verdünnungen in Rech-

nung zu setzen. Ob man nicht überhaupt statt des Keiles vielleicht ein System von ebenen Platten in sehr dichter Aufeinanderfolge (wenigstens in den mittleren Werten mit nur $^2/_{10}$ oder $^1/_4$ Gewichtsprozenten Unterschied) verwenden sollte, die in ähnlicher Weise wie beim Dareschen Hämoglobinometer mittels einer rotierenden Scheibe eingeschoben werden könnten, das zu entscheiden wäre Sache einer eingehenden technischen Prüfung. Ich glaube, daß man mit einem recht langen Keile mindestens gleiche Exaktheit erreichen könnte. Das alte Mischgefäß nach Fleischl hätte natürlich ebenso zu verschwinden wie die hiefür zu brauchenden Kapillaren.

Auch ein solches Instrument müßte natürlich von einem großen wissenschaftlichen Institute hergestellt werden, damit eine genügende Gewähr für die Exaktheit seiner Arbeit geboten sei. Dann könnte es aber auch Werte liefern, welche in ihrer Genauigkeit nicht weit hinter denen des Spektrophotometers zurückblieben, und man könnte es wirklich mit gutem Gewissen für wissenschaftliche Untersuchungen verwenden. — —

Ich habe jetzt ein wenig in Zukunftsmusik geschwelgt, meine Herren. Ich glaube, daß die scharfe Kritik, die ich an unseren derzeit in Gebrauch stehenden Apparaten geübt habe, nur heilsam sein kann und insoferne notwendig ist, als unsere Hämometrie ganz allgemein wirklich noch auf einer bedauerlich tiefen Stufe steht und arg in Gefahr schwebt, ganz in Mißkredit zu kommen. Das wäre gewiß ein Schaden, dem ich durch die gegebene Kritik und durch die daran geknüpften Vorschläge steuern möchte. Mögen nun in Zukunft diese Vorschläge zur Ausführung gelangen oder mögen neue Ideen bessere Bahnen eröffnen, in jedem Falle wäre mein Zweck erreicht, wenn wir demnächst gute und für praktische wie wissenschaftliche Zwecke brauchbare Instrumente bekämen, welche imstande wären, die alten unzulänglichen Methoden zu verdrängen und allerorts eine einheitliche Art der Hämoglobinbestimmung zu inaugurieren.

---

3. Vorlesung.

(Zählung der roten Blutkörperchen.)

Ich gehe heute zu einem erfreulicheren Kapitel der hämatologischen Technik über, zur Zählung der Blutkörperchen. Erfreulicher sage ich deshalb, weil hier kein Streit mehr besteht über das Prinzip der Untersuchungsmethode und weil wir ein Instrumentarium besitzen, das wohl in der ganzen Blutkörperchen zählenden Welt vorwiegend und fast ausschließlich in Gebrauch steht und auch wirklich allen berechtigten Anforderungen zu entsprechen vermag. Gezählt werden die roten und weißen Blutkörperchen, hie und da auch die Blutplättchen, doch hat es die letztere Untersuchung weder zu einem brauchbaren Grade von Genauigkeit, noch auch bisher zu einer praktischen oder wissenschaftlichen Bedeutung gebracht.

Wir wollen zunächst von der ältesten Methode sprechen, der

Zählung der roten Blutkörperchen.

Der erste, der Erythrozyten zählte, war wohl Vierordt, und seit ihm haben sich hervorragende Männer der Wissenschaft aller Kulturnationen bemüht, immer bessere Methoden für diese Untersuchung zu finden. Ich erwähne die Apparate von Hayem, Gowers, Malassez, Thoma-Zeiß und Alferow. Die Apparate von Hayem und Malassez sind in den wesentlichen Bestandteilen die Vorbilder der späteren geworden, und der Apparat von Thoma-Zeiß stellt eine Zusammenfassung der guten Eigenschaften aller seiner Vorgänger dar. Er beherrscht derzeit die Blutkörperchenzählung souverän und konnte auch weder durch die Modifikation der Zählkammer und des Zählverfahrens durch Alferow, noch durch die Umgestaltung der Kapillarpipette seitens Durhams verdrängt werden, noch auch

durch die Bestrebungen, die Zählung der roten Blutzellen durch andere Methoden zu umgehen.

Ich werde die älteren Methoden nur deshalb, weil sie eben dem Thoma-Zeißschen Apparate zugrunde liegen, und nur in ihrem Prinzipe kurz skizzieren.

Zählmethode von Hayem.

Hayem maß sich in einer geeichten Kapillare 2—5 mm^3 Blut ab und in einer zweiten 500 mm^3 seiner Verdünnungsflüssigkeit, brachte beides in ein zylindrisches Glasgefäß und mischte mit einem Stäbchen. Von der Mischung wurde ein Tropfen in eine Kammer von $^1/_5$ mm Höhe gebracht, welche in folgender Weise hergestellt ward: Auf dem Objektträger ist eine geschliffene Glasplatte mit einem zentralen kreisrunden Ausschnitt aufgeklebt und in diesem kreisrunden Ausschnitte eine zweite, die genau um $^1/_5$ mm weniger hoch ist als die periphere Platte. Legt man jetzt ein geschliffenes dickes Deckglas unter Andrücken über die beiden Plättchen, so entsteht zwischen der kleinen, niedrigeren und kreisrunden Platte und der unteren Fläche des Deckglases eine „Kammer" von $^1/_5$ mm Höhe, die ringsum von einem tieferen Schutzkanale umgeben ist. In diese Kammer wurde der Tropfen der Blutmischung gebracht. Gezählt wurde mittels eines Okularmikrometers, das ein Quadrat von 2 mm Seitenlänge mit Einteilung in sechzehn kleinere Quadrate von $^1/_5$ mm Seitenlänge eingraviert trug.

Zählapparate a) von Gowers.

Gowers verlegte unter Beibehaltung des übrigen Instrumentariums das Mikrometer in die Zählkammer selbst, indem er auf dem Boden derselben eine Quadrateinteilung anbringen ließ und dabei die Seitenlänge eines Teilquadrates auf $^1/_{10}$ mm reduzierte.

b) von Malassez.

Malassez führte zur Blutabmessung und Mischung zum erstenmal einen Potainschen Mélangeur von der Form ein, wie er beim Apparate von Fleischl-Miescher besprochen wurde, jedoch für eine Verdünnung von 1 auf 100 oder 200 berechnet, und zählte zunächst in einer Kapillare bekannten Kubikinhaltes, welche einer Glasplatte aufgekittet war, mittels eines Okularmikrometers mit quadratischer Einteilung. Später verbesserte er seinen Zählapparat in der Art, daß er in einen dicken geschliffenen Objektträger eine 1 mm tiefe, kreisrunde Rinne schneiden ließ, welche eine Platte von 6—7 mm Durchmesser abgrenzte. Die Überhöhung für das Deckgläschen zur Herstellung einer Kammer wird durch mehrere in der Umgebung der Rinne

angebrachte Mikrometerschrauben erzielt, welche so eingestellt werden können, daß man die Höhe der Kammer zwischen dem geschliffenen Objektträger und dem auf den Schraubenenden ruhenden Deckglase genau bestimmen kann, z. B. mit $^1/_5$ mm. Ein Tropfen der Blutmischung wird aus dem Mélangeur auf die runde Platte gebracht; außerhalb des Ringes wird ein Tröpfchen Wasser aufgetropft, um den Abschluß der Zählkammer nach außen hin zu bewirken. Das Deckglas wird auf den Schraubenenden durch Federdruck fixiert. Auf dem Boden der zentralen Kammerplatte sind 100 Rechtecke von $^1/_4$ mm Länge und $^1/_5$ mm Breite angebracht, welche wieder zu Gruppen von zehn vereinigt sind.

c) von Alferow.

Ganz ähnlich ist das Prinzip der Methode von Alferow. Nur hat er zwei Schutzrinnen quer durch den Objektträger gezogen und dadurch eine rechteckige Zählkammer hergestellt, welche die ganze Breite des Objektträgers einnimmt. Die Kammer wird mit dem wie bei Malassez durch Federn aufgepreßten Deckglase versehen und dadurch gefüllt, daß ein Tropfen der Blutmischung, an ihren Rand gebracht, sich vermöge der Kapillarität gleichmäßig über die Kammer verbreitet. Die Zählung bewerkstelligt Alferow auf eine ganz eigenartige Weise, welche zugleich sein Verfahren für allgemeine Verwendung unbrauchbar macht; er fertigt von dem Präparate eine mikrophotographische Platte an oder er markiert die Stellung der einzelnen Blutkörperchen mit dem Stifte auf der matten Scheibe in einer Dunkelkammer und zählt in beiden Fällen nachher mittels einer in Quadratzentimeter geteilten Papier- oder Glasfläche.

Der Zählapparat von Thoma-Zeiß

verwendet den Schüttelmischer von Malassez, die Kammer von Hayem und das Objektmikrometerprinzip von Gowers und stellt so ohne Zweifel das vollkommenste und für den allgemeinen Gebrauch geeignetste Instrumentarium zur Blutkörperchenzählung dar.

Zählflüssigkeiten

Wir brauchen zu jeder Zählung der Blutkörperchen zunächst eine Verdünnung des Blutes. Da in jedem Kubikmillimeter normalen Blutes mindestens 5,000.000 zellige Elemente vorhanden sind und auch im schwerst veränderten anämischen Blute mindestens der zehnte Teil davon, kann von einer Zählung im unverdünnten Blute keine Rede sein. Die Verdünnung muß aber,

um bei diesen Riesenzahlen nicht gar zu große Fehler mit sich zu bringen, von besonderer Genauigkeit sein, und es muß hiefür eine Flüssigkeit in Verwendung kommen, welche die Gewähr gibt, daß keine roten Blutkörperchen durch sie zerstört werden. Das Problem der Verdünnungsflüssigkeiten ist das erste, das ich besprechen möchte.

Man verwendete hiefür zunächst sogenannte isotonische Salzlösungen, d. h. solche, welche in ihrer molekularen Konzentration mit dem Blutplasma übereinstimmen und deshalb für die Erythrozyten indifferent sind. Es gibt aber keine für jedes Blut isotonische Lösung. Denn die molekulare Konzentration des Plasmas schwankt bei den verschiedenen Erkrankungen. Und ganz gewiß darf man nicht eine 0,6—0,7%ige Kochsalzlösung als isotonisch betrachten; es müßte vielmehr zum mindesten eine Lösung mit einem Salzgehalte von 0,9% sein. Eine solche wäre ja schließlich, insbesondere wenn man sie mit einem basischen Anilinfarbstoff entsprechend färbt, zu brauchen. Man hat auch andere Salzlösungen in Verwendung gezogen, welche eine kompliziertere Zusammensetzung haben und als annähernd isotonisch zu betrachten sind, Lösungen, welche zumeist Kochsalz und schwefelsaures oder phosphorsaures Natron oder aber schwefelsaures Magnesium enthalten und eventuell noch gefärbt sind. Ich führe als Beispiel, weil sie scheinbar noch vielfach in Verwendung ist,
a) von Toisson. die Zählflüssigkeit von Toisson an. Ihr Rezept lautet:

Natrii chlorati	1,0
Natrii sulfurici pur.	8,0
Glycerini neutralis	30,0
Aq. destillatae	160,0
Methylviolett 5 B.	0,025

Ich habe diese Flüssigkeit vor Jahren durch längere Zeit in Verwendung gehabt und kann Sie vor ihrem Gebrauch nur lebhaft warnen. Erstens einmal ist es mir oft passiert, daß sie einen großen Teil der roten Blutkörperchen zu Blutschatten machte durch Hämoglobinentziehung; sie war also gewiß nicht isotonisch, woran wohl eine mangelhafte Zubereitung in der Apotheke die Schuld trug. Andererseits ist sie nicht leicht steril zu erhalten, es vegetieren vielmehr Schimmelpilze mit einer gewissen Wonne in ihr und bilden mit der Zeit dichte Wolken, die man immer erst abfiltrieren muß. Je mehr man aber filtriert, desto blässer wird

die Flüssigkeit und übrigens ist sie doch niemals mehr völlig rein. Ein Zusatz von 1‰ Thymol könnte darin vielleicht eine Abhilfe schaffen. Was die Färbung mit Methylviolett betrifft, so ist es, wenn man die Flüssigkeit schon verwendet, am besten, sich sie ohne Farbstoff zu verschreiben und selbst zu färben. Man gibt von einer vorrätig gehaltenen beliebig starken Lösung von Methylviolett in Wasser mit Hilfe eines Glasstabes einige wenige Tröpfchen in eine Flasche von 200 cm³ der Lösung, so viel, daß dieselbe schön blaßviolett gefärbt und noch vollkommen durchsichtig ist. Wenn man zu starke Färbungen verwendet, bilden sich leicht Niederschläge in der Kammer und es werden die Mischpipetten so angefärbt, daß ihre Reinigung Schwierigkeiten bereitet.

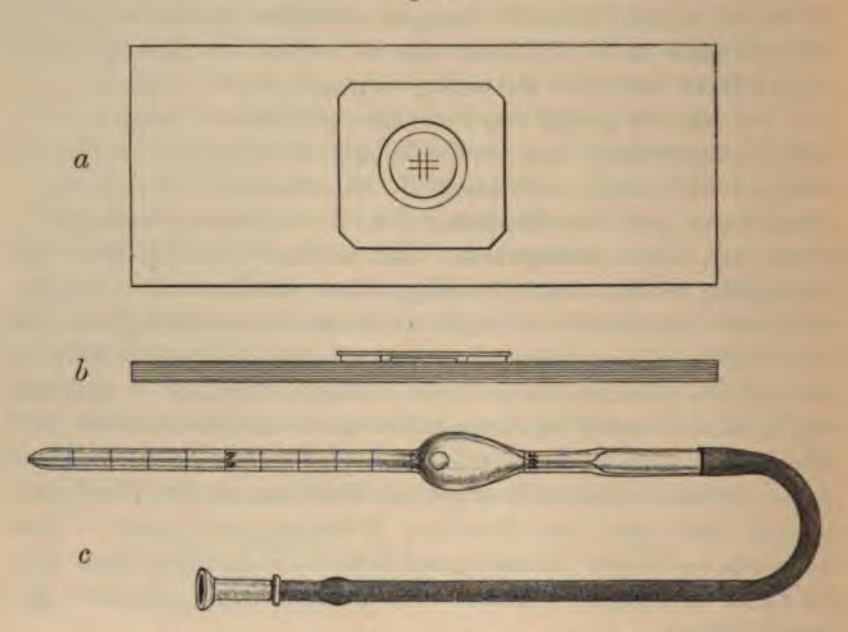
Ich bin, wie gesagt, von dem Gebrauch dieser Flüssigkeit vollständig abgekommen und verwende jetzt ausschließlich Sublimatlösungen mit Zusatz von Salzen als Zählflüssigkeit. Diese haben nämlich den ganz unschätzbaren Vorteil, daß sie die roten Blutkörperchen direkt konservieren, daß sie steril bleiben und unbeschränkt haltbar sind. Allerdings kann man sie nicht färben, weil jeder organische Farbstoff durch das Sublimat sogleich als Niederschlag herausgefällt wird. Das ist aber auch gar nicht notwendig, weil jeder, der seine Augen halbwegs offen hat — und das muß man von einem Blutuntersucher unter allen Umständen verlangen — in eine solche Gefahr überhaupt nicht kommt. Es sind bisher mehrere Sublimatlösungen als Zählflüssigkeiten verwendet worden, und zwar von Pacini, Hayem und Löwit. Ich gebrauche seit vielen Jahren ausschließlich die Zählflüssigkeit von Hayem, weil sie die einfachste Zusammensetzung aufweist. Ihr Rezept lautet: b) von Hayem.

Hydrargyri bichlorati corrosivi . .	0,50
Natrii sulfurici	5,00
Natrii chlorati	1,00
Aq. destillatae	200,00

Die Flüssigkeit ist unbegrenzt haltbar und man kann sie beim besten Willen gar nicht verderben. Im Laufe der Zeit fällt ein kleiner Teil der Salze heraus; das beeinträchtigt ihre Brauchbarkeit nicht im mindesten. Ich mißhandle meine Flüssigkeiten in jeder Weise, schütte den Rest der gebrauchten wieder in die Flasche zurück, und trotzdem sind sie immer gleich gut. Man kann ein mit dieser Flüssigkeit hergestelltes

Zählpräparat tagelang liegen lassen; wenn das Deckglas tadellos fest auf der Zeißschen Kammer aufsaß, so daß eine Austrocknung längere Zeit verhindert wird, so bleibt das Zählpräparat absolut unverändert und man kann nach einem oder zwei Tagen Kontrollzählungen machen, ohne daß sich eine Zelle verändert hätte. Ich kann daher den ausschließlichen Gebrauch einer solchen Sublimatlösung nur unbedingt empfehlen.

Fig. 7.



Blutkörperchen-Zählapparat nach Thoma-Zeiß.

a Zählkammer von oben (nat. Gr.), *b* Zählkammer im Längsschnitte (nat. Gr.), *c* Schüttelmischer für rote Blutkörperchen ($^2/_3$ d. nat. Gr.).

Teile des Zählapparates.

Zur Herstellung des Zählpräparates verwendet man nun nach Thoma-Zeiß: 1. ein Instrument zur Abmessung und Mischung von Blut und Zählflüssigkeit: den Schüttelmischer (Melangeur); 2. eine Zählkammer nach Muster der Kammer von Hayem mit Objektmikrometer.

a) Schüttelmischer.

Der Schüttelmischer von Thoma-Zeiß ist die Vorlage für jenes Instrument, das zur Blutabmessung beim Apparate von Fleischl-Miescher dient. Ich kann mich also kurz fassen und auf

die dort gegebene Beschreibung verweisen. Ein enges Kapillarrohr trägt an seinem oberen Ende unmittelbar vor dem Übergange in die birnförmige Ampulle die Marke 1. Seine Länge von der Spitze bis zu dieser Marke ist in zehn gleiche Teile eingeteilt und der mittelste Teilstrich ist durch die beigesetzte Marke 0,5 besonders hervorgehoben. Die Ampulle, welche sich oben wieder in ein enges, aber nicht kapillares Rohr verengt, enthält eine bewegliche Glasperle und faßt das Hundertfache des Inhaltes der Kapillare bis zum Teilstrich 1. Unmittelbar oberhalb der Ampulle ist demnach an dem Apparate die Marke 101 angebracht. Das sich etwas verjüngende obere Ende des Glasrohres trägt einen etwa $1^1/_2$ dm langen abnehmbaren Gummischlauch mit beinernem Mundstück. Miescher hat auch für den Schüttelmischer des Zählapparates die gleiche Einteilung der Kapillare empfohlen, wie er sie bei seinem Hämometer verwendet, also die Anbringung von bloß drei Marken, und zwar 1, $^2/_3$ und $^1/_2$ mit den früher besprochenen Nebenmarken. Ich halte dieses Vorgehen bei dem Schüttelmischer des Zählapparates für ganz unnötig und sogar insoferne für unpraktisch, als es eine stärkere Verdünnung als 1:200, die man doch bei Untersuchung von Polyzythämien ganz gut brauchen kann, nicht zuläßt. Von anderer Seite wurde es empfohlen, den Gummischlauch des Mischers mit einer Pravazspritze luftdicht in Verbindung zu bringen und das Aufsaugen von Blut und Verdünnungsflüssigkeit durch allmähliches Lüften ihres Stempels zu vermitteln; es soll so eine einfachere und genauere Einstellung der Blutsäule ermöglicht werden. Ich halte das für eine Spielerei, die höchstens ein Mensch von ganz unverbesserlicher Ungeschicklichkeit braucht; ein anderer kann nach kurzer Übung mit dem Mund rascher und ebenso genau aufsaugen und einstellen wie mit der Pravazspritze. Der unveränderte Mischer von Zeiß ist also nach meinem Dafürhalten auch der beste und zweckmäßigste.

Die Zählkammer ist auf einer etwa 2—3 mm dicken geschliffenen Glasplatte von der Form eines etwas breiteren Objektträgers untergebracht. Gerade in der Mitte ist auf diesen Objektträger mit Kanadabalsam eine quadratische ebenfalls geschliffene Glasplatte von etwa 2 cm Seitenlänge aufgekittet, welche zentral einen 1 cm im Durchmesser haltenden kreisrunden Ausschnitt hat. Im Innern dieses Ausschnittes und konzentrisch zu seinem Rande ist eine kleinere, 7—8 mm messende kreisförmige b) Zählkammer

farblose Glasplatte eingekittet und derart eben abgeschliffen, daß ihre Oberfläche genau $^1/_{10}$ mm tiefer liegt als die Oberfläche der äußeren, gewöhnlich beim Zeißschen Apparate gelblich gefärbten Glasplatte. Ein $^4/_{10}$ oder $^6/_{10}$ mm dickes geschliffenes Deckglas von etwa 24 mm Seitenlänge ist dazu bestimmt, die Kammer einzudecken, derart, daß sich dann zwischen der inneren kreisförmigen Glasplatte und dem Deckglase ein Raum von $^1/_{10}$ mm Höhe vorfindet. Diese Höhe wird dann eingehalten, wenn das Deckglas der gelben Glasplatte so fest und innig anliegt, daß überall zwischen beiden die Newtonschen Farbenringe sichtbar sind, was bei voller Reinheit beider Gläschen durch leichtes Anpressen ohneweiters zu erreichen ist.

Die kreisförmige Glasplatte trägt nun in ihrer Mitte eingeritzt ein Netzmikrometer, hergestellt durch zwei Liniensysteme, welche aufeinander senkrecht stehen und einander in ihrer Mitte treffen. So bilden sie die Figur eines Kreuzes; jeder Balken desselben ist 1 mm breit und der Durchschnittspunkt beider Balken ist demnach genau 1 mm². Dieser Quadratmillimeter stellt die eigentliche Zeißsche Kammerteilung dar. Die Linien beider Systeme sind je $^1/_{20}$ mm weit voneinander entfernt. In der eigentlichen „Kammer" entstehen demnach kleinste Quadrate von $^1/_{20}$ mm Seitenlänge, deren Flächeninhalt also $^1/_{400}$ mm² beträgt. Ließe man diese 400 ganz gleichen Quadrate, welche sonach den Kammerboden bedecken, ungeteilt und ungruppiert, so wäre ein Irrtum leicht möglich. Man war also bemüht, sie zu gruppieren, und hat dies dadurch erreicht, daß jede fünfte Quadratreihe in der Vertikalen sowohl wie in der Horizontalen durch einen in ihrer Mitte gezogenen Strich nochmals geteilt wurde. Wenn man also z. B. oben in der Horizontalen mit der ersten Quadratreihe beginnt, so folgen auf diese so geteilte Reihe vier ungeteilte, dann wieder eine geteilte, vier ungeteilte usw., den unteren Rand bildet dann naturgemäß eine ungeteilte Reihe, eben die vierte der letzten (vierten) horizontalen Gruppe. Ebenso geht es von links nach rechts; wenn man wieder die erste (linke) vertikale Reihe teilt, so folgen dann vier ungeteilte, dann eine geteilte usw., der rechte Rand wird von der ungeteilten vierten Reihe der letzten (vierten) vertikalen Gruppe gebildet (siehe die Zeichnung). Auf diese Weise ist eine Gruppierung in 16 Einheiten höherer Ordnung geschaffen, welche in der später zu besprechenden Weise bei der Zählung vorzügliche Dienste leistet.

Eine Zeitlang war die Meinung verbreitet, daß die Verschiedenheit des Luftdruckes in verschiedenen Höhenlagen durch Veränderung der Kammertiefe einen Einfluß auf die Zählresultate üben könne, und es wurde daher von Meissen der Vorschlag gemacht, den Schutzraum unterhalb des Deckglases mit der

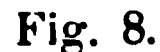
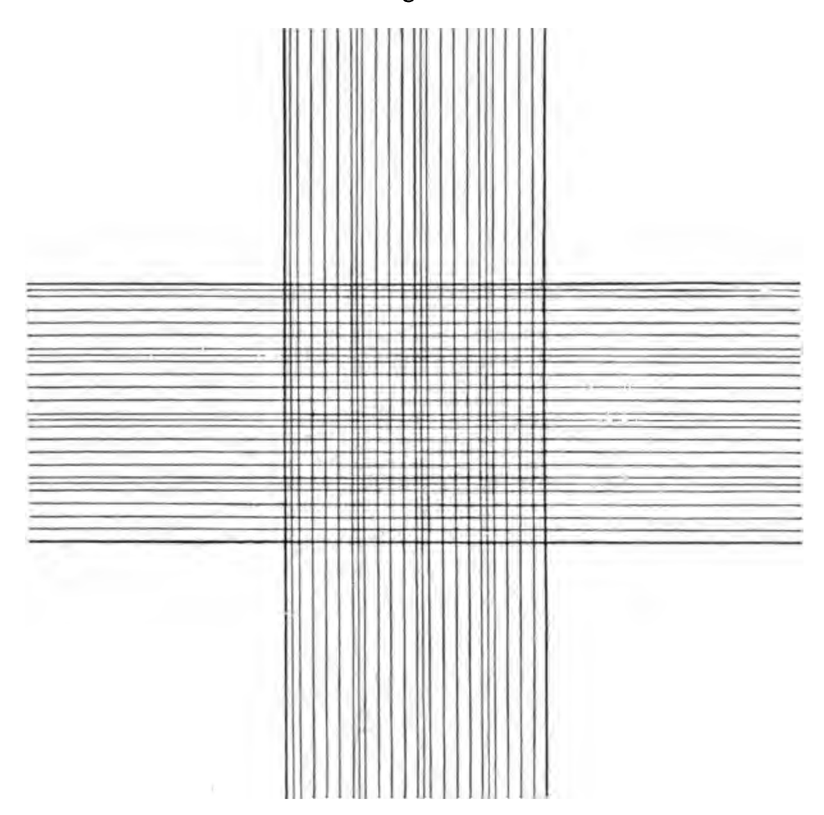


Fig. 8.



Netzteilung der Zeißschen Kammer.

äußeren Luft in direkte Verbindung zu setzen durch eine in die äußere gelb gefärbte Platte gravierte Rinne. Das wurde von Zeiß auch einige Zeit getan, doch ist es ganz ohne Belang, da sich inzwischen die Irrtümlichkeit jener der Änderung zugrunde liegenden Meinung zur Sicherheit herausgestellt hat.

Prinzip der Methode.

Das Prinzip der Zählung mittels der Zeißschen Kammer ist sonach bald wiedergegeben: Man saugt Blut bis zu einer

der Marken der Kapillare, dann Verdünnungsflüssigkeit bis zur Marke 101 und mischt beide miteinander. Sodann wird mitten aus der Mischung ein kleiner Tropfen auf das zentrale Kammerplättchen gebracht und mit dem Deckglas eingedeckt. Man wartet dann, bis die sämtlichen Zellen sich zu Boden gesenkt haben, etwa zwei Minuten, beginnt die Zählung an der Hand der wiedergegebenen Einteilung und berechnet sich aus der gefundenen Zellsumme, der gebrauchten Verdünnung und dem Kubikinhalte der durchgezählten Flüssigkeitssäule die Zahl der Erythrozyten auf den Kubikmillimeter des untersuchten Blutes.

Einzelvorschriften.

Im einzelnen ist bei der Durchführung der Zählung das folgende zu beachten.

Der Bluttropfen, welcher zur Zählung verwendet werden soll, muß ganz frisch und unter allen Umständen ohne jeden Druck der Stichwunde entquellen. Sowie nur irgend ein Druck angewendet wird, ist auf das Ergebnis der Zählung kein Verlaß mehr. Der vorher auf seine absolute Reinheit geprüfte Schüttelmischer wird sodann in die Kuppe des Tropfens gebracht, ohne daß er die Haut berührt, und nun saugt man vorsichtig und in gleichmäßigem Zuge an. Es ist am besten, wenn der Kranke dabei sitzt oder mit etwas abgewendetem Kopfe liegt. Man hebt mit den Fingern der linken Hand das Ohrläppchen ein wenig empor und bringt so die Wunde zum Klaffen. Dabei dient der Ballen der linken Hand dem kleinen und Ringfinger der zwischen den übrigen Fingern den Schüttelmischer etwas schräge oder horizontal haltenden rechten Hand als Stütze, damit nicht durch Zittern oder eine unvorhergesehene Erschütterung die Spitze des Kapillarrohres aus dem Tropfen herauskomme und nicht Luftblasen eingesaugt werden. Anfänger drücken leicht die Spitze der Kapillare an die Haut an und verschließen dadurch ihre Öffnung; nun saugen sie an, immer kräftiger, aber es kommt nichts in die Kapillare. Dann werden sie vielleicht inne, was die Ursache ist, lüften die Spitze etwas und in diesem Augenblicke schießt eine unkontrollierbare Menge Blut in die Kapillare hinein; meistenteils war der durch das Saugen erzeugte negative Druck im Innern des Schüttelmischers so groß, daß der ganze Bluttropfen im Nu in den Apparat gesogen wird und noch eine Menge Luftblasen dazu. Mit der Zählung ist es dann gründlich vorbei. Davor soll man sich also hüten. Während des Aufsaugens soll man sich bemühen, das Auge möglichst senkrecht über den Teilstrich, bis zu welchem man

aufsaugen will, zu bringen, damit man gleich anfangs die Stellung der Blutsäule zu den Marken genauer feststellen könne. Dazu muß der Schlauch ohne Mundstück mindestens 15 cm lang sein, denn sonst wird er am Ende des Glasrohres geknickt, und abgesehen davon, daß man doch nicht imstande ist, das Auge in die gewünschte Lage zu bringen, entsteht wieder die Gefahr, daß beim Aufhören der Knickung zu rasch und zu viel Blut und eventuell Luft mit aufgesogen wird. Es gehört eine gewisse Übung dazu, in langsamem gleichmäßigem Zuge, nicht ruckweise zu saugen; hat man die aber einmal, dann gelingt es recht leicht, schon beim Aufsaugen selbst möglichst scharf auf die gewünschte Marke einzustellen. Hat man diese mit dem oberen Ende der Blutsäule sicher erreicht, so entfernt man den Apparat aus dem Bluttropfen, ohne das Mundstück zunächst aus dem Munde zu lassen, und wischt vorsichtig und sorgfältig mittels eines leinenen Tuches oder eines Filtrierpapieres die der Spitze außen anhaftenden Blutteilchen ab, wobei man sich natürlich zu hüten hat, daß man nicht durch Anlegen des Tuches an die Öffnung der Spitze einen Teil des in die Kapillare aufgesogenen Blutes wieder heraussaugt. Nun erst läßt man das Mundstück los, bringt die Marke in Augenhöhe und stellt mittels des schon früher beschriebenen Abstreifens die Blutsäule möglichst scharf auf die Marke ein, genau so wie es beim Fleischl-Miescherschen Apparat beschrieben wurde. Hatte man unvorsichtigerweise wesentlich (also etwa 2—3 mm) höher aufgesogen als bis zur gewünschten Marke, so ist ein Einstellen auf diese Marke bereits unstatthaft, man muß dann bis zum nächsten Teilstrich aufsaugen, wodurch nur am Schluß die Rechnung um ein weniges komplizierter wird. Abmessung und Einstellung müssen sehr rasch geschehen, damit keine Gerinnung der dünnen Blutsäule eintritt.

Ist die Einstellung gelungen, so verschließt man die Spitze der Pipette mit der Kuppe des linken Zeigefingers und geht mit der so verschlossenen Spitze in die Zählflüssigkeit ein, welche man schon vor der Untersuchung in einem Porzellan- oder Glasschälchen bereitgestellt hatte. Jetzt saugt man, noch immer bei verschlossener Spitze, ein klein wenig an und dann erst wird der Finger gelüftet. Es hat dies alles den Zweck, um bei der jetzt einzunehmenden steilen, fast senkrechten Haltung der Kapillare das Verlorengehen irgend eines kleinsten Teiles der abgemessenen Blutmenge zu verhindern. Die Fingerkuppe bleibt auch während

des weiteren Saugens unmittelbar an der Spitze der Kapillare, jeden Augenblick bereit, dieselbe bei Eintreten eines zufälligen Hindernisses wieder zu verschließen.

Sowie nun die aufgesogene Flüssigkeit in die Ampulle kommt, bildet sie dort zunächst einen großen, allseits konvex begrenzten Tropfen, der die Perle an die Wand drückt und eine Zeitlang nicht zerfließt. Saugt man jetzt bei ruhiger Haltung des Instrumentes weiter, so passiert es häufig, daß der Tropfen sich zunächst über die Perle emporwölbt und dann mit einem Male über sie an die Wand hinüberspringt, zwischen der Perle und der Wand eine kleine oder größere Luftblase einschließend. Das muß vermieden werden, und man vermeidet es, indem man sogleich, wie die Flüssigkeit in die Ampulle eindringt, mit der haltenden rechten Hand die Pipette in kleinen Exkursionen hin- und herdreht. Dadurch werden einesteils Blut und Zählflüssigkeit schon während des Aufsaugens gemischt, andererseits wird die Perle auf allen Seiten mit der Flüssigkeit in Berührung gebracht und fällt in dieselbe hinein, ohne daß es zur Bildung einer Luftblase kam. Gelingt das nicht sofort, so kann man ja einen Augenblick unten mit dem Finger die Spitze der Kapillare verschließen und jetzt durch kleine Erschütterungen die Perle in die Flüssigkeit hineinmanövrieren. Dann saugt man langsam weiter, besonders langsam wieder, wenn man in die Nähe der Marke 101 kommt. Jetzt ist auch der linke Zeigefinger bereits in unmittelbarster Nähe der Spitze und engt den Zufluß zu derselben ein, und in dem Augenblicke, wo die Marke 101 von der Flüssigkeit erreicht wird, verschließt er die Spitze vollkommen. Sollte trotz aller Vorsicht eine Luftblase in die Ampulle gekommen sein, so entfernt man sie in der schon beim Miescherschen Apparate angegebenen Weise. Zeigt sich etwa in der Ampulle ein noch so kleines Blutgerinnsel, so ist die Untersuchung selbstverständlich von neuem zu beginnen.

Ist die Füllung gelungen, so bringt man den Mischer in horizontale Lage, trocknet die Wand der Spitze von außen ab, verschließt jetzt zunächst die Spitze neuerlich mit der Kuppe des rechten Mittelfingers, knickt sodann am anderen Ende des Rohres den Gummischlauch mit der Daumenkuppe und faßt so den Mischer zwischen diese beiden Finger, während man das Mundstück des Schlauches mit dem zangenförmig gekrümmten Zeigefinger der rechten Hand umschließt. Man darf nicht zuerst

oben verschließen, weil dabei leicht ein Teilchen Flüssigkeit unten hinausgepreßt wird und die Genauigkeit der Verdünnung leidet. Jetzt schüttelt man gründlich, aber ohne zu große Kraftanwendung, durch $1^1/_2$—2 Minuten, während welcher Zeit eine möglichst gleichmäßige Mischung innerhalb der Ampulle entsteht.

Sofort nach vollzogener Mischung ist die Füllung der Zählkammer vorzunehmen. Es ist im allgemeinen durchaus unstatthaft, die Pipette nach der Mischung liegen zu lassen. Denn es senken sich dann die Zellen in der Flüssigkeit wieder zu Boden und man ist, wenn man auch später vor der Kammerfüllung noch einmal und noch so sorgfältig mischt, doch nicht gewiß, daß das Ergebnis ein genaues ist. Man wird ein solches Vorgehen höchstens zugeben können, wenn man eine Untersuchung außer Hause zu machen gezwungen ist und dort kein Mikroskop zur Verfügung hat. Dann muß man allerdings im Schüttelmischer transportieren, hat jedoch dann die Pflicht, doppelt gründlich zu schütteln und dann womöglich zwei Kammern zu füllen und zu vergleichen, um sich wenigstens vor einem gar zu groben Irrtum zu sichern. So verläßlich wie bei sofortiger Füllung der Kammer ist eine solche Zählung immerhin nicht mehr.

Bei gefülltem Mischer habe ich in der Ampulle 100 Teile der Blutverdünnung, während in der Kapillare e i n Teil vollständig reiner und zellfreier Zählflüssigkeit ist. Ich darf also nicht etwa mit dem ersten Tropfen die Kammer füllen, sondern muß zunächst mehrere, wenigstens vier bis fünf Tropfen aus dem Mischer herausblasen, ehe ich einen kleinen Tropfen, der dann sicher der in der Ampulle enthaltenen Mischung entspricht, auf das zentrale runde Plättchen der Zählkammer bringe. Der Tropfen soll so groß sein, daß nach Aufsetzung des Deckglases der Raum über der runden Platte vollkommen durch die Flüssigkeit ausgefüllt erscheint, und gar nichts oder doch nur sehr wenig in den umgebenden Schutzkanal fließt; jedenfalls darf nichts von der Mischung zwischen die gelbe Platte und das Deckglas kommen, was bei zu großem Tropfen leicht geschieht. Das Treffen der richtigen Tropfengröße ist Übungssache. Man hat nun die Aufgabe, die Zählkammer derart einzudecken, daß zwischen Deckglas und gelber Platte die N e w t o n schen Farbenringe sichtbar werden, und daß zugleich auf der runden Platte keine Luftblase sich findet. Zum ersteren Zwecke müssen vor allem Deckglas und Objektträger peinlich rein sein; dann genügt schon ein leichter

Druck mit einem Federstiel o. dgl. auf das Deckglas im Bereiche der unterliegenden gelben Platte, um die Farbenringe zu erzeugen. Im Bereiche der zentralen Platte und der Kammer darf man natürlich nicht drücken. Doch ist dies Vorgehen nicht praktisch, da sich ein so aufgelegtes Deckglas bei der geringsten Bewegung verschiebt. Und wenn man nun z. B. die Kammer im Krankenzimmer gefüllt hat und sie zur Zählung ins Laboratorium übertragen will, so kann es einem leicht passieren, daß sich das Deckglas verschiebt oder gar herunterfällt, und unter beiden Umständen muß man eine neue Füllung vornehmen. Auch passiert es einem sehr häufig, wenn man das Deckglas ohne besondere Vorsichtsmaßregeln auf den Objektträger fallen läßt, daß sich eine tückische Luftblase gerade inmitten der Zählkammer breit macht.

Diese Unannehmlichkeiten zu umgehen, verwende ich seit vielen Jahren ein paar kleine Kniffe. Wenn eine Spur von Flüssigkeit zwischen zwei ebene Glasplatten gebracht wird, zu klein, um in kapillarer Schichte den Raum zwischen denselben auszufüllen, so hindert sie nicht, daß die beiden Glasplatten sich innig bis zur Bildung von Farbenringen aneinanderlegen; im Gegenteil: durch kapillare Attraktion werden die beiden Glasplatten fest aneinandergekittet, und wenn sich jetzt einmal die Newtonschen Farbenringe gebildet haben, so ist es gar nicht mehr so leicht, die Platten auseinanderzubringen. Diesen Umstand mache ich mir bei der Eindeckung der Zählkammer in der Weise nutzbar, daß ich von der reinen Zählflüssigkeit, welche vor dem Ausblasen das Kapillarrohr des Mischers füllt, zunächst auf zwei entgegengesetzte Ecken der quadratischen Glasplatte durch Auftupfen mit der Spitze der Kapillare ein kleinstes Tröpfchen bringe. Erst jetzt blase ich fünf oder sechs Tropfen heraus und gebe, nachdem ich die Spitze der Kapillare rasch abgewischt, den nächsten auf die zentrale Platte. Dann nehme ich das noch rasch sorgfältig gereinigte Deckglas zwischen Zeigefinger und Daumen der rechten Hand, führe einen Finger der linken Hand an die linke Kante der quadratischen Glasplatte und lege, gestützt von diesem Finger, die linke Kante des Deckglases dortselbst auf. Nun senke ich mit den Fingern der rechten Hand die rechte Kante des Deckglases langsam so weit, bis seine Mitte die Kuppe des auf der rundlichen Platte befindlichen Tropfens berührt; erst jetzt lasse ich das Deckglas vollständig fallen. Bei Gebrauch dieser

Vorsicht kommt niemals eine Luftblase auf die zentrale Platte. Nun drückt man vorsichtig, um es nicht zu verschieben, das Deckglas im Bereiche der äußeren Platte fest auf die Unterlage an. Ich mache das gewöhnlich in der Art, daß ich ein Stückchen Filtrierpapier über die Kammer decke, mit der linken Hand aufpressend die linke Hälfte des Deckglases fixiere und mit den Fingern der rechten Hand auf der anderen Hälfte streichend einen kräftigen Druck ausübe. Immer muß man es sorgfältig vermeiden, im Bereiche des hohlliegenden Teiles des Deckglases zu drücken, und ebenso muß eine Verschiebung des Deckglases vermieden werden. Man kann das Aufpressen auch ohne Filtrierpapier mit einem Federstiel, Bleistift oder dem Griff der Blutlanzette usw. besorgen.

War kein Stäubchen zwischen beiden Glasplättchen, so entstehen jetzt sofort an allen Stellen, wo nicht die Zählflüssigkeit sich in kapillarer Schichte ausgebreitet hat, reichlich Newtonsche Farbenringe, und auch an den kleinsten nicht benetzten Stellen innerhalb des Flüssigkeitsbereiches finden sie sich. Durch kapillare Attraktion ist jetzt das Deckglas gewöhnlich so fest auf der Unterlage fixiert, daß man an seinem Rande mit einer geraden Deckglaspinzette die ganze Zählkammer frei emporheben kann.

Nun bleibt die so tadellos gefüllte Kammer etwa zwei Minuten ruhig und horizontal liegen, um den in der Flüssigkeit schwebenden Blutkörperchen Zeit zu lassen, sich auf den Boden der Kammer zu senken. Erst hernach wird die Kammer zur Zählung unters Mikroskop gebracht.

Wahl der Zählvergrößerung.

Zur Zählung empfiehlt sich am meisten eine Vergrößerung von etwa 180—220. Dem entspricht bei Zeiß Objektiv C mit Okular 3, bei Reichert Objektiv 6 b (mit doppelter Fokaldistanz) mit Okular 2, bei Leitz Objektiv 5 mit Okular 3. Zunächst verschafft man sich eine Übersicht über das ganze Präparat und überzeugt sich, ob die Verteilung der Zellen auf dem Kammerboden überall eine annähernd gleichmäßige ist. Wäre dies nicht der Fall, so müßte eine neue Kammerfüllung vorgenommen werden.

Wahl der Verdünnung.

Für die Vornahme der Zählung ist es zunächst wichtig, daß die Zahl der Zellen auf der kleinsten Flächeneinheit der Kammer ($^1/_{400}$ mm^2) weder eine zu kleine, noch eine zu große sei. Im ersteren Falle würde man insgesamt zu wenig Zellen zur Zählung

zur Verfügung haben, im letzteren Falle sind wegen der dichten Lagerung der Zellen und wegen des vielfachen Liegens solcher auf den Trennungslinien Irrtümer leicht möglich, und überdies ist bei zu großem Zellreichtum die Verteilung der Zellen immer eine unregelmäßigere. Nehmen wir nun normales Blut mit 5,000.000 roten Blutkörperchen im Kubikmillimeter an, so kommen bei hundertfacher Verdünnung auf ein Quadrat von $^{1}/_{20}$ mm Seitenlänge im Mittel dreizehn Zellen zu liegen. Das ist ohne Frage zu viel, und die Arbeit wird dadurch erschwert und ungenauer gemacht. Die Hälfte ist gerade recht.

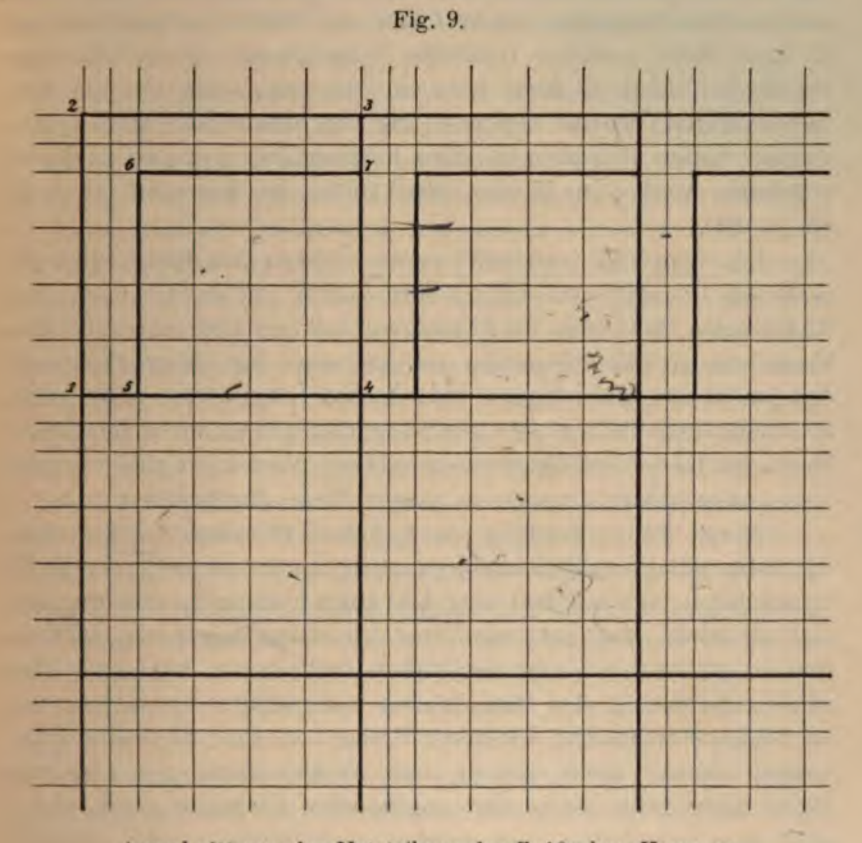
Diese Überlegung müssen wir aber schon bei der Herstellung der Verdünnung zur Geltung kommen lassen, und auch deswegen ist es so wichtig, sich von vorneherein schätzungsweise ein Urteil über den Zellgehalt des Blutes zu bilden. Hat man nicht genug Erfahrung, um dieses aus dem klinischen Befunde und der bloßen Besichtigung des Bluttropfens zu fällen, so tut man gut, zunächst ein Nativpräparat (siehe später) herzustellen und zu beobachten, ehe man an die Zählung geht. Aus dem oben Gesagten ergibt sich der Satz: Bei einem Blute, das voraussichtlich annähernd eine normale Zahl von Erythrozyten hat, verdünne ich niemals 1:100, sondern ich sauge immer nur Blut bis zur Marke 0,5 auf und verdünne somit zweihundertfach. Das Gleiche tue ich stets, so lange ich die Überzeugung habe, daß das zu untersuchende Blut mehr als die Hälfte der normalen Erythrozytenzahl hat, also mehr als $2^{1}/_{2}$ Millionen. Erst wenn ich weiß oder vermute, daß die Zahl unter diesen Wert herabgeht, verdünne ich 1:100. Weiß ich, daß das Blut eine abnorm große Erythrozytenzahl aufweist, etwa 8—10 Millionen (Polyzythämie), so verdünne ich noch stärker als 1:200, indem ich bis 0,4 ($^{4}/_{10}$) oder noch lieber nur bis 0,3 ($^{3}/_{10}$) aufsauge. Die Verdünnung ist dann $100 \times {}^{10}/_{4}$, beziehungsweise $100 \times {}^{10}/_{3}$.

Gruppeneinteilung der Kammerfläche.

Für die Zählung selbst wird man sich zunächst in dem Chaos der kleinen Quadrate dadurch Ordnung schaffen, daß man Gruppen von ihnen mittels der in der Kammerzeichnung vorgesehenen, in ihrer Mitte durch eine Linie weiter geteilten Quadratreihen zu Einheiten höherer Ordnung zusammenfaßt. Da ist es nun — ein Blick auf die beigegebene Zeichnung macht es klar — in die Augen fallend, daß immer wieder eine Gruppe von sechzehn kleinsten Quadraten allseits von einer mitten durchstrichenen Quadratreihe umgeben und so abgegrenzt wird. Nur

an dem rechten und unteren Kammerrande grenzen diese Gruppen direkt an die uneingeteilte Umgebung. Diese Gruppen von sechzehn kleinsten Quadraten werden nun — leider Gottes, muß ich sagen — fast überall als höhere Einheit für die Zählung verwendet, indem man die zwischen ihnen gelegenen, in der Mitte durchstrichenen

Fig. 9.



Ausschnitt aus der Netzteilung der Zeißschen Kammer.

1-2-3-4 Gruppe von 25 Quadraten ($^1/_{16}$ mm^2),
4-5-6-7 Gruppe von 16 Quadraten ($^1/_{25}$ mm^2).

Quadrate unberücksichtigt läßt. Das ist aber meines Erachtens in hohem Grade unklug und schädigt gewiß auch die Genauigkeit der Zählung. Denn eine der allergrößten Fehlerquellen bei der Blutkörperchenzählung ist in der unvermeidlichen geringen Ungleichmäßigkeit der Verteilung der Zellen auf dem Boden der Zählkammer gelegen, und diese Fehlerquelle kann man nur da-

durch in ihrer schädlichen Wirkung eindämmen, wenn man möglichst große, und zwar zusammenhängende Flächen durchzählt. Das aber wird gerade durch Verwendung der höheren Einheit von sechzehn kleinsten Quadraten unmöglich gemacht. Man kann das aber wesentlich schlauer anfassen, ohne daß man dabei irgend eine Unbequemlichkeit hat. Man nehme doch nur einmal zu einer solchen Quadratgruppe von sechzehn die Hälfte der umgebenden, in ihrer Mitte geteilten Quadrate (Umrahmung) dazu und man erhält eine neue Einheit höherer Ordnung: eine Gruppe von 25 Quadraten. Solcher Gruppen, die nun unmittelbar aneinanderstoßen, finden sich vier in jeder horizontalen und vier in jeder vertikalen Reihe, im ganzen also 16 in der Kammer; 16×25 ist ja 400.

Ich verwende nun seit vielen Jahren überhaupt niemals mehr die Gruppen von 16, sondern immer nur die Gruppen von 25 kleinsten Quadraten als Zähleinheit höherer Ordnung und kann Ihnen ein gleiches Vorgehen im Interesse der Genauigkeit nur dringendst ans Herz legen. Eine solche Gruppe hat ganz leicht in einem Gesichtsfelde der Zähllinse Platz, ohne zu weit an den Rand des Gesichtsfeldes heranzureichen. Man kann also bequem eine ganze solche Gruppe in einem Zuge durchzählen.

Durchzählung der Kammer.

Es ist Zeitvergeudung, nach jedem kleinsten Quadratchen die darin gefundene Zellenzahl zu notieren oder einem „Schreiber" zu diktieren. Bis auf 100 oder 150 kann man doch zählen, ohne sich zu irren. Man gehe also von der einen, sagen wir, weil es uns so geläufig ist, von der linken und oberen Ecke aus und zähle entweder in der Horizontalen oder in der Vertikalen, wie es bequem erscheint, die erste Reihe von fünf kleinsten Quadraten durch, dann springt man weiterzählend zur nächsten Reihe über, zählt sie in der umgekehrten Richtung durch, dann geht man zur dritten, zur vierten und fünften, und erst am Schluß notiert man die Summe.

Dabei hat man noch auf folgendes zu achten. Auch wenn verhältnismäßig wenige Zellen auf ein kleinstes Quadrat entfallen, liegen doch immer einzelne Zellen auf den Rand- und Trennungslinien der Quadrate. Mit denen muß man sich irgendwie abfinden, ohne einen wesentlichen Zählfehler zu machen. Man ist in dieser Hinsicht übereingekommen, alle diejenigen Zellen, welche auf dem linken und oberen Rande eines Quadrates liegen, bei diesem Quadrate mitzuzählen, dagegen diejenigen Zellen, welche

auf dem unteren und rechten Rande liegen, wegzulassen. Diese kommen dann zum Teile bei den Nachbarquadraten zur Zählung, zum Teile bleiben sie, wenn sie eben am Rande der gezählten Fläche überhaupt stehen, ungezählt. Haben Sie dann eine Gruppe von 25 Quadraten gezählt, so sind alle auf ihrem oberen und linken Rande gelegenen Zellen gezählt, alle unten und rechts liegenden Zellen nicht. So gleicht sich das immer wieder aus, mag man zählen, wieviel man will.

Erkennung der Leukozyten.

Bei der Zählung muß man nun auch darauf achten, daß man wirklich nur die Erythrozyten und nicht auch die Leukozyten mitzählt. Es wäre das bei normaler Leukozytenzahl kein gar zu großer Fehler, da auf die ganze Kammer bei hundertfacher Verdünnung nur sieben bis acht Zellen entfallen; aber bei Leukozytosen wäre es schon mißlicher, und noch mehr bei Leukämien. Allerdings machen die Leukozyten bei starker Vermehrung und insbesondere bei Leukämien sich so aufdringlich bemerkbar, daß man schon ganz unglaublich unachtsam sein müßte, um sie als Erythrozyten zu zählen. Bei Verwendung der Hayemschen Zählflüssigkeit sind die Leukozyten nicht gefärbt, während die Erythrozyten ihre gelbe Färbung unverändert beibehalten haben. Dadurch lassen sich die weißen Zellen ganz leicht unterscheiden. Sie erscheinen bei gutem Lichte eher etwas bläulich schimmernd, sind mit Ausnahme der sehr zart erscheinenden Lymphozyten doch sichtlich größer als die Erythrozyten, und sind besonders durch eine sehr scharfe schwarze Grenzlinie gekennzeichnet. Nur die eosinophilen Zellen haben gleich den Erythrozyten eine gelbliche Farbe, lassen sich aber doch durch den Farbenton, weiters durch ihre stets unebene, oft geradezu bucklig erscheinende Oberfläche und durch die dunkle Grenzlinie von den roten Blutkörperchen unterscheiden. Ein halbwegs erfahrener Beobachter käme höchstens in die Lage, bei verminderter Aufmerksamkeit einmal ausnahmsweise einen Lymphozyten mitzuzählen, jeder andere Fehler ist durchaus leicht zu vermeiden.

Wieviel zählt man?

Die letzte Frage, die uns noch zu beantworten bleibt, ist: Wieviel haben wir zu zählen?

Die Beantwortung dieser Frage hängt von dem Grade der Genauigkeit unserer Zählmethode ab. Und sehr peinliche diesbezügliche Untersuchungen, welche von Reinert und anderen angestellt wurden, haben ergeben, daß bei größter Sorgfalt in der Durch-

führung und bei Abzählung von 1000—1300 Zellen der wahrscheinliche Fehler noch immer etwa 3% beträgt. Zählt man weniger, so steigt er rapid. Daraus ergibt sich die zwingende Forderung: Wenn eine Erythrozytenzählung überhaupt Anspruch auf Brauchbarkeit machen will, so müssen allermindestens 1000 Zellen gezählt worden sein, womöglich mehr. Nur in den Fällen von ganz besonderer Zellarmut des Blutes, z. B. bei vorgeschrittener perniziöser Anämie, kann eventuell um einiges unter dieses Mindestmaß herabgegangen werden, aber auch da ist es besser, man macht keinen Gebrauch von dieser Erlaubnis.

Nach diesem Grundsatze wird man von vornherein seine Zählung einzurichten haben. Man sieht ja gleich, wenn man die erste Gruppe von 25 Quadraten durchgezählt hat, wieviel man wird zählen müssen, um die geforderte Gesamtzahl zu erreichen. Sofort muß ich auch noch folgendes sagen: Wenn unerwartet viel Zellen in einer solchen Quadratgruppe vorhanden sind, etwa 250, so darf ich mich trotzdem nicht etwa mit vier derartigen Quadratgruppen begnügen; denn ich habe noch eine zweite Bedingung für die Genauigkeit der Zählung zu erfüllen. Da die Ungleichmäßigkeit der Verteilung auf dem Zählkammerboden vielleicht die größte Fehlerquelle darstellt, muß ich eine möglichst große Fläche durchzählen, und das werde ich auch tun müssen, selbst dann, wenn ich dabei weitaus mehr als 1000 Zellen zu zählen gezwungen bin. Als Minimum der Fläche möchte ich Ihnen nun nach meinen Anschauungen die Hälfte der Kammer, also acht Gruppen zu 25 Quadraten anführen. So viel müssen wir meines Erachtens ebenfalls unter allen Umständen zählen; ich zähle sogar immer, auch wenn ich mehr als genug Zellen in acht Quadratgruppen vorfinde, deren zehn. Ist die Zahl der Zellen in der erst gezählten Gruppe niedriger als 120, so richte ich mich gleich darauf ein, die ganze Kammer, also alle 16 Gruppen, zu zählen. Eine Mittelzahl zu wählen ist unpraktisch, weil dann die Berechnung schwieriger ist und man die Zeit, die man für die Rechnerei verwenden müßte, viel nutzbringender zur Durchzählung einer größeren Fläche benützt. Sind in der ganzen Kammer beträchtlich weniger als 1000 Zellen vorhanden, wie dies bei schweren perniziösen Anämien nicht so selten vorkommt, so ist es mindestens wünschenswert, daß noch eine zweite Kammer durchgezählt werde.

Es ist weiter darauf zu achten, daß man aus jedem Teile der Kammer und doch womöglich in einem gewissen Zusammenhange Quadratgruppen durchgezählt habe; denn es ist manchmal die Zellenaussaat in der einen Hälfte oder in der einen Ecke doch merklich dichter als in der anderen, und wenn man dann nicht beide gezählt hat, macht man einen Fehler. Manche Autoren, welche ebenfalls nach Gruppen von 25 Quadraten zählen, empfehlen daher, die beiden Diagonalen der Kammer, in welchen gerade acht Quadratgruppen liegen, zu zählen. Man kann das ohneweiters tun; doch ziehe ich es vor, womöglich flächenhaft zusammenstoßende Gruppen zu wählen. Ich würde also bei Zählung von acht Gruppen z. B. die Gruppen 1 und 2 der ersten und dritten horizontalen Reihe und die Gruppen 3 und 4 der zweiten und vierten Reihe zählen. Doch komme ich fast nie in diese Lage, weil ich immer mindestens zehn Gruppen zähle; das tue ich folgendermaßen: In der ersten horizontalen Reihe werden die Gruppen 1, 2 und 3 gezählt, in der zweiten Reihe die Gruppen 3 und 4, in der dritten Reihe die Gruppen 1 und 2, und in der vierten die Gruppen 2, 3 und 4. Auf diese Weise ist eine durchaus symmetrische Verteilung der durchgezählten Kammerteile erreicht, und es stehen immer mehrere (fünf) gezählte Quadratgruppen miteinander in flächenhafter Berührung.

Und nun zur Berechnung des Resultates! Dieselbe unterliegt gar keinen Schwierigkeiten und gestaltet sich, wenn Sie sich wirklich an das halten, was ich bisher empfohlen habe, sogar außerordentlich einfach. Zunächst ist es geradezu Stumpfsinn, wenn von mancher Seite immer zunächst die gefundene Zellsumme durch die Zahl der gezählten kleinsten Quadrate dividiert wird, um zu erfahren, wieviel Zellen im Durchschnitte auf einem solchen Quadrate liegen. Davon hat man nur Rechnerei und Ungenauigkeit. Wir zählen unter allen Umständen weniger als die Raumeinheit durch, auf welche wir die Zellenzahl im Blute berechnen wollen; wir müssen also immer die gesamte gefundene Zellsumme noch mit einem sehr bedeutenden Faktor multiplizieren. Wozu also vorher dividieren? Die Berechnung selbst ergibt sich aus folgenden Erwägungen. Berechnung.

Zunächst habe ich nicht reines Blut zur Zählung verwendet, sondern ein verdünntes, und die Verdünnung (Vd) betrug entweder $^1/_{100}$ oder $^1/_{200}$ oder vielleicht einmal auch $^3/_{1000}$, das letztere,

wenn ich nur bis 0,3 Blut aufgesogen hatte. Ich muß also, um auf reines Blut umzurechnen, die gefundene Zellsumme n zunächst mit dem reziproken Werte der vorgenommenen Verdünnung multiplizieren, also mit $^{100}/_3$ oder $^{200}/_3$ oder $^{1000}/_3$.

Dann zweitens habe ich nicht einen ganzen Kubikmillimeter Raum durchgezählt, sondern einen Teil eines solchen, dessen Kubikinhalt ich mir aus dem Produkte von Höhe in die Fläche berechnen kann. Natürlich muß ich, um zur Einheit zu gelangen, die reziproken Werte beider in Rechnung stellen. Die Kammerhöhe (H) beträgt $^1/_{10}$ mm; ich muß sonach die Zahl n weiter mit dem reziproken Werte der Höhe, also mit 10, multiplizieren. Die Fläche (Fl), welche ich durchzählte, beträgt bei Zählung eines kleinsten Quadrates $^1/_{400}$ mm², bei Zählung einer Fünfundzwanzigergruppe $^{25}/_{400}$, bei Zählung von zehn solchen Gruppen $\frac{10 \times 25}{400}$. Ich werde sonach mit dem reziproken Werte dieser Fläche, also z. B. mit $\frac{400}{10 \times 25}$, zu multiplizieren haben.

Ist dies alles geschehen, so habe ich wirklich die absolute Zahl (Z) der roten Blutkörperchen im Kubikmillimeter des untersuchten Blutes berechnet.

Aus dieser Aufstellung ergibt sich die allgemein für jede Berechnung einer mittels des Thoma-Zeißschen Apparates vorgenommenen Zählung, möge sie rote oder weiße Blutkörperchen betreffen, gültige Formel:

$$Z = n \times \frac{1}{Vd} \times \left(\frac{1}{H} \times \frac{1}{Fl}\right).$$

Erschrecken Sie nicht über die scheinbar komplizierte Formel mit den vielen Brüchen; diese sind in Wirklichkeit ganze Zahlen, und die ganze Formel ist durchaus harmlos, wie Ihnen sofort ein paar Beispiele zeigen werden.

Beispiele. 1. Gezählt n Zellen bei hundertfacher Verdünnung in 8×25 Quadraten. Berechnung:

$$Z = n \times 100 \times 10 \times \frac{400}{8 \times 25} = n \times 100 \times 10 \times 2 = \underline{n \times 2000;}$$

das heißt: wenn ich bei hundertfacher Verdünnung die halbe Kammer durchzähle, so habe ich die gefundene Zahl n mit 2000 zu multiplizieren, um direkt die absolute Erythrozytenzahl im Kubikmillimeter zu erhalten. Hätte ich unter denselben Um-

ständen zweihundertfache Verdünnung angewendet, so hätte ich n mit 4000 zu multiplizieren.

2. Gezählt n Zellen bei hundertfacher Verdünnung in 10×25 Quadraten. Berechnung:

$$Z = n \times 100 \times 10 \times \frac{400}{10 \times 25} = n \times 100 \times 16 = \underline{n \times 1600};$$

das heißt: wenn ich bei hundertfacher Verdünnung zehn Gruppen von 25 Quadraten zähle, wie ich es gewöhnlich zu tun pflege, so habe ich die gefundene Zahl n mit 1600 zu multiplizieren; hätte ich zweihundertfache Verdünnung verwendet, so wäre die Zahl n mit 3200 zu multiplizieren gewesen.

3. Gezählt n Zellen bei hundertfacher Verdünnung in der ganzen Kammer (16×25 Quadrate). Berechnung:

$$Z = n \times 100 \times 10 \times \frac{400}{16 \times 25} = n \times 100 \times 10 \times 1 = \underline{n \times 1000};$$

das heißt: wenn ich bei hundertfacher Verdünnung die ganze Kammer durchzähle, so ist die gefundene Zahl n mit 1000 zu multiplizieren. Hätte ich 1:200 verdünnt, so wäre n mit 2000 zu multiplizieren gewesen.

4. Das Allerschlimmste wäre folgendes: Ich hätte bis 0,3 ($^3/_{10}$) aufgesogen und 10×25 Quadrate gezählt. Die Verdünnung beträgt demnach $\frac{1}{100 \times {}^{10}/_3}$, ihr reziproker Wert ist $100 \times {}^{10}/_3$, und die Berechnung lautet:

$$Z = n \times 100 \times \frac{10}{3} \times 10 \times \frac{400}{10 \times 25} = n \times 100 \times \frac{10}{3} \times 16 =$$
$$\underline{= n \times 1600 \times \frac{10}{3}},$$

das heißt: ich berechne in einem solchen Falle genau so, wie wenn ich bis 1 aufgesogen hätte, und multipliziere den erhaltenen Wert mit $^{10}/_3$, dem reziproken Werte des Skalenteiles der Kapillare, bis zu welchem ich aufgesogen habe.

Sie sehen, meine Herren, wie einfach sich die ganze Rechnerei gestaltet, wenn man die oben angeführten Bedingungen einhält. Sie nicht einzuhalten, wäre zum allermindesten unklug. Jeder Untersucher wählt sich ja einen bestimmten Modus, von

dem er nicht ohne triftigen Grund abgeht, und so wird es jedem leicht, sich die paar Zahlen, welche für die Berechnung seiner Resultate in Betracht kommen, auswendig zu merken und die Berechnung nach vollzogener Zählung jedesmal in einem Bruchteile einer Minute zu Ende zu führen.

Morphologische Beobachtung in der Zählkammer.

Ein aufmerksamer Beobachter wird sich mit der bloßen Feststellung der absoluten Erythrozytenzahl im Zählpräparate nicht zufrieden geben, sondern sich auch die gezählten Zellen in bezug auf ihre morphologischen Eigenschaften betrachten.

Man kann schon sehr viel über die Größe der Zellen, über das Vorkommen von Mikro- und Megalozyten oder von Poikilozyten aus dem Zählpräparate aussagen, und ebenso kann man sich über den Hämoglobingehalt der Zellen eine ganz brauchbare Schätzung erlauben. Eine typische perniziöse Anämie ist z. B. auf den ersten Blick in das Erythrozytenzählpräparat beinahe gerade so gut zu diagnostizieren wie aus einem gefärbten Präparate, und ebenso ist eine jede Chloranämie scharf gekennzeichnet. Auch die Blutplättchen kann man in einem tadellosen, sauberen Zählpräparate sehen, es ist aber klüger, sich mit ihnen nicht zu beschäftigen, da für den weniger Geübten zu leicht Irrtümer entstehen. Ebenso steht es mit den Leukozyten. Der Geübte erkennt nicht nur ohneweiters, daß irgend eine Zelle ein Leukozyt sei, sondern er kann recht oft sogar seine Art diagnostizieren; gar nicht schwer ist es, wie schon oben gesagt, an ihrem gelben Farbentone und ihrer unebenen Oberfläche die eosinophil granulierten Leukozyten zu erkennen.

Reinigung der Apparate.

Nach vollzogener Zählung sind die Apparate sogleich wieder zu reinigen. Auch das will gelernt sein.

Die Zählkammer wird man für gewöhnlich mit nichts anderem als mit reinem Wasser waschen, dann wird sie getrocknet, indem man auch den Schutzkanal mit dem Tuch von Flüssigkeit und Stäubchen säubert. Mit Alkohol, Äther, Xylol, Benzin u. dgl. darf man an der Kammer nicht herumarbeiten, weil diese Agentien imstande sind, den Kitt derselben (Kanadabalsam) zu lösen. Ist durch irgend eine Ungeschicklichkeit einmal eine gar zu gründliche Verunreinigung der Kammer, insbesondere ihrer Netzeinteilung, erfolgt, so darf man auf die runde Platte einen Tropfen etwa 10%iger Kalilauge bringen, der bei längerer

Einwirkung und nachheriger ausgiebiger Wasserspülung und mechanischer Bearbeitung stets den gewünschten Erfolg erzielt.

Der Schüttelmischer ist genau in derselben Weise zu reinigen, wie ich es bereits bei Besprechung des Mieschersehen Apparates angegeben habe. Sollte einmal die Blutsäule in der Kapillare geronnen sein, was eigentlich nicht vorkommen darf, aber dem Anfänger doch manchmal passiert, so bemühe man sich, mittels eines feinen Metalldrahtes, wie er zum Durchziehen durch die Kanüle der Pravazschen Spritze verwendet wird, die geronnene Blutsäule zu lockern und sie hernach durch einen kräftigen Ruck mit Hilfe des am oberen Ende des Glasrohres angesetzten Doppelgebläses durch die Spitze der Kapillare nach außen zu befördern. Es ist nicht klug, Gerinnsel in die Ampulle zu bringen, da sie von dort manchmal nicht so leicht zu entfernen sind. Ist ein Gerinnsel in die Ampulle gelangt und bringt man es nicht sogleich nach Wassereinsaugung durch das dicke Ende des Rohres mit Hilfe des an die Spitze angesetzten Gebläses heraus, so empfiehlt es sich, wieder für längere Zeit (Stunden) Kalilauge einzusaugen und dann die Entfernung auf demselben Wege zu betreiben.

Es ist überhaupt ratsam, viel gebrauchte Pipetten von Zeit zu Zeit einmal besonders gründlich mit einem feinen langen Drahte und einer Kalilaugenlösung zu reinigen, da sich doch feinste Niederschläge namentlich an der Ampullenwand ansetzen und dieselbe trüben. Man läßt dann die Pipette am besten über Nacht mit Lauge gefüllt, zieht dann den Draht durch, schüttelt die Perle energisch und wiederholt gegebenen Falles das Ganze mehrmals, bis wieder alles spiegelblank ist. Selbstverständlich ist die Lauge immer durch vielmaliges Durchspülen mit Wasser und Alkohol wieder vollständigst zu vertreiben.

Kritik der Methode.

Ich habe nun noch ein paar Worte der Kritik über unsere Zählmethode anzufügen.

Das ganze Prinzip der Methode ist kritisch durchaus einwandfrei; doch liegt es in der Natur der Sache, daß sich eine Reihe von Fehlerquellen ergeben, die zu sehr erheblichen Fehlresultaten führen können. Die Fehlerquellen können gelegen sein: 1. In der fehlerhaften Konstruktion der Apparate; 2. in der Art der Blutentnahme; 3. in der Blutabmessung und Blutmischung; 4. in der Herstellung des Zählkammerpräparates und in der ungleichmäßigen Verteilung der Zellen in der Kammer; und 5. end-

Fehlerquellen.

lich in der Zählung selbst — wenn wir schon ganz von den bei Anfängern ohne genügende Belehrung häufig vorkommenden und manchmal schauderhaften Berechnungsfehlern absehen.

Am besten sind wir von vornherein bezüglich des ersten Punktes daran, da wir über ein so vorzügliches und gewissenhaftes Institut wie das von Zeiß verfügen. Wiederholte Untersuchungen haben ergeben, daß die mit verschiedenen Apparaten von Zeiß erhaltenen Differenzen wirklich so geringfügig sind, als dies überhaupt möglich ist, daß die Konstruktion der Apparate also nichts zu wünschen übrig läßt. Ich kann das aus eigener Erfahrung bestätigen.

Verwendet man Apparate anderer Herkunft, so soll man immer etwas vorsichtig sein und namentlich den Schüttelmischer sich vorher gründlich ansehen. Die Marken 1 und 101 müssen unmittelbar an der Ampulle stehen, nicht $^1/_2$ cm davon entfernt, wie ich das manchmal gesehen habe. Überdies ist es bei der Auswahl der Pipetten zu empfehlen, sich solche mit längerer und nicht gar zu enger Kapillare und dementsprechend mit großer Ampulle zu wählen. Auch muß der Schlauch genügend lang sein (15 cm) und das Etui Platz genug haben, um diesen längeren Schlauch ohne Knickung unterzubringen, sonst ist man immer und immer in der Arbeit gestört und ärgert sich jedesmal über solch lächerliche Kleinigkeiten, die doch die Zählung ganz ungeheuer erschweren und ungenau machen können.

Die Fehlerquellen bei der Arbeit selbst sind eigentlich unberechenbar, denn es kommt immer auf die Gewissenhaftigkeit und auch Geschicklichkeit des Arbeiters an, wie weit er es bringt. Wer nicht das Zeug in sich hat, mit der denkbar größten Peinlichkeit alle bereits angeführten und noch zu erwähnenden Punkte zu beherzigen, der fange lieber erst gar nicht an, rote Blutkörperchen zu zählen, denn er wird meistenteils ein unsinniges Resultat bekommen.

Ich habe auf der Klinik die denkbar schlechtesten Erfahrungen bezüglich Brauchbarkeit der Erythrozytenzählungen gemacht. Es sind unvermeidliche Fehlerquellen und Fehler in Hülle und Fülle vorhanden; daher ist es unbedingt geboten, jeden, auch den allerkleinsten unnützen Fehler zu vermeiden.

Die erste unvermeidliche Fehlerquelle liegt darin, daß das Blut gar so eine ungeheure Menge von zelligen Elementen im Kubikmillimeter enthält.

Es wäre Unrecht, unter solchen Umständen von jedem Bluttropfen zu verlangen, daß er genau so viele Zellen enthalte wie sein Nachbar oder wie ein Bluttropfen aus irgend einer entfernten Körperregion. Schwankungen sind da sicher vorhanden, aber sie gehen wohl unter normalen Verhältnissen nicht so weit, daß sie einen in der Beurteilung des erhobenen Befundes unsicher machten. Immerhin möchte ich annehmen, daß bei normaler Erythrozytenzahl Schwankungen bis zu einigen Hunderttausend gelegentlich einmal vorkommen können; bei sehr herabgesetzter Erythrozytenzahl sind sie gewiß viel geringer, bei Polyzythämien gewiß viel höher. Und so passiert es auch dem erfahrensten und gewissenhaftesten Untersucher hie und da, allerdings selten einmal, daß er eine Zahl bekommt, die ihn verblüfft. Dann muß man sie durch eine neue Untersuchung kontrollieren.

Ein zweiter, niemals ganz zu vermeidender und sehr in die Wagschale fallender Fehler ist in der Ungleichmäßigkeit der Zellverteilung auf dem Kammerboden gelegen. Ersichtlich ungleichmäßige Präparate sind von vorneherein zu verwerfen; auch bei den scheinbar gleichmäßigen sind immer merkliche Differenzen trotz der sorgfältigsten Mischung vorhanden. Im allgemeinen sind sie bei gleich guter Arbeit um so größer und empfindlicher, je dichter die Zellen in der Kammer liegen. Das ist ja mit ein Grund für mich, warum ich bis zur Hälfte der normalen Erythrozytenzahl herab eine zweihundertfache Verdünnung übe und empfehle.

Der ungleichmäßigen Verteilung kann man nur dadurch Herr werden, daß man große und womöglich zusammenhängende Flächen aus allen Teilen der Kammer durchzählt. Daher meine früher so peinlich wiedergegebene Art der Zählung.

Um diese ungleichmäßige Verteilung der Zellen schon bei der Herstellung des Zählpräparates nach Möglichkeit einzuschränken, heißt es sehr rasch das Blut abmessen, ebenso rasch die Verdünnungsflüssigkeit unter sofortigem Drehen der Pipette nachsaugen und nach der Füllung derselben besonders gründlich mischen, dann einen Tropfen mitten aus der Mischung heraus wählen und die Eindeckung des Präparates augenblicklich vornehmen, ehe sich die Zellen in dem kleinen Tröpfchen auf der runden Platte erst senken können.

Weitere sehr grobe Fehler, auf welche ich schon ausführlich hingewiesen habe, können bei der Blutentnahme und der Blutabmessung entstehen. Ich kann aber trotz der früheren Erörterungen es nicht unterlassen, nochmals darauf hinzuweisen, welche riesigen Fehler entstehen können, wenn der Tropfen aus der Stichwunde heraus gepreßt wird. Ich habe wiederholt gänzlich falsche Zahlen gesehen, die nur daher stammten, daß der betreffende Herr schnöder Bequemlichkeit halber in die Fingerbeere gestochen und dann, als nicht genug Blut zum Vorschein kam, einfach gedrückt hatte. Wenn auch schon bei angewendetem Drucke keine makroskopisch sichtbare Beimengung von Lymphe erfolgt ist, so weiß man doch niemals, ob etwas und wieviel von ihr ausgepreßt wurde.

Die unvermeidlichen Fehler bei der Blutabmessung können durch das früher beschriebene, möglichst peinliche Verfahren bei der Einstellung des oberen Endes der Blutsäule möglichst unschädlich gemacht werden, und zwar verhältnismäßig sehr gut, da die Kapillare eng und lang ist.

Hat man alle die angeführten Punkte in durchaus peinlicher Weise befolgt und 1200—2000 Zellen durchgezählt, so ist man bei ordentlicher Übung berechtigt, sich der Meinung hinzugeben, daß der mittlere Fehler einer solchen Zählung nicht mehr als 3% der resultierenden Zahl beträgt. Ganz ausgeschlossen sind größere Fehler aber auch dann noch nicht, wie ich eben vorher erwähnte.

Man darf sich also keinen Illusionen hingeben und muß immer festhalten, daß nur der überhaupt brauchbare Erythrozytenwerte bekommen kann, der in der sorgfältigsten Weise arbeitet. In der Hand eines ungeübten oder wenig gewissenhaften Untersuchers kann die Erythrozytenzählung geradezu zum Fluche werden, weil sie falsche Ergebnisse zutage fördert und gegebenen Falles zu folgenschweren falschen Schlüssen führen kann. Ich erinnere mich noch immer lebhaft daran, wie einmal eine wenig vorgeschrittene perniziöse Anämie mit beträchtlichen Magenbeschwerden nur deshalb durch lange Zeit für ein Ulcus ventriculi mit vorausgegangener Blutung gehalten und danach behandelt wurde, weil ein durchaus falscher Blutbefund erhoben worden war. Das war im wesentlichen nur ein diagnostischer Irrtum; es könnte aber auch noch Schlimmeres passieren!

---

4. Vorlesung.

(Färbeindex. Leukozytenzählung.)

Im normalen Blute sind Zahl der Erythrozyten und Hämoglobingehalt zwei Werte von bemerkenswerter Konstanz; es besteht gewissermaßen ein fixes Verhältnis zwischen ihnen, so daß wir in der Lage sind, von einer „Normalfärbung“ der Erythrozyten zu sprechen; es scheint dieses gegenseitige gleiche Verhältnis sogar konstanter zu sein als die absoluten Werte beider Elemente.

Bei pathologischen Blutveränderungen nun kann dieses fixe Verhältnis ebenfalls bestehen bleiben, obwohl die absoluten Werte beider Elemente sich wesentlich verändern. Es gibt z. B. Fälle, wo im Blute anstatt der normalen Erythrozytenzahl von 5,000.000 und anstatt des normalen Hämoglobingehaltes von 100 sich Werte von 3,000.000 und 60 oder gar von 1,000.000 und 20 finden. In beiden Fällen hat sich das gegenseitige Verhältnis zwischen Erythrozytenzahl und Hämoglobingehalt nicht verändert, der Hämoglobingehalt des einzelnen roten Blutkörperchens ist im Durchschnitt der gleiche geblieben wie in der Norm. Die Zellen eines solchen Blutes sind auch weder im frischen noch im gefärbten Präparate blaß. Es kann auch eine gleichsinnige Zunahme beider Werte bestehen, z. B. der Erythrozyten auf 9,000.000, des Hämoglobingehaltes auf etwa 180%.

Sehr häufig liegen aber durchaus andere Verhältnisse vor. Die Zahl der Erythrozyten ist z. B. normal geblieben, der Hämoglobingehalt jedoch ist auf 50% der Norm gesunken, so daß der Hämoglobingehalt der einzelnen roten Blutzelle nur mehr die Hälfte der Norm beträgt. Jetzt sind die roten Blutkörperchen auch im mikroskopischen Präparate deutlich als blaß gefärbt zu erkennen. Gleiche Verhältnisse können bei Polyzythämie eintreten, wenn der Hämoglobingehalt in geringerem Grade zu-

genommen hat als die Zahl der roten Blutkörperchen oder normal geblieben oder gar subnormal geworden ist. Dann sieht ein Präparat dieses Blutes unter dem Mikroskope trotz seines absolut hohen Hämoglobingehaltes dennoch blaß aus. Auch bei bestehender Verminderung der Erythrozyten kann ein gleiches Verhältnis ersichtlich sein, wenn eben der Hämoglobingehalt wesentlich stärker abgenommen hat als die roten Blutkörperchen, wenn er also z. B. bei einer Zahl von 2,500.000 Erythrozyten nur mehr 20 beträgt anstatt 50.

Endlich gibt es auch noch ein entgegengesetztes Verhalten, das auffallenderweise nur dann zu finden ist, wenn die Zahl der Erythrozyten in ganz besonders hohem Grade gesunken ist, auf 1,000.000 etwa. Dann finden wir nicht selten anstatt der entsprechenden Hämoglobinzahl von 20 eine solche von 25, und im mikroskopischen Präparate sieht dementsprechend wenigstens der größere Teil der Zellen auffallend hämoglobinreich aus.

Ich habe das alles angeführt, um Ihnen klar zu machen, daß für die Diagnostik nicht nur der absolute Hämoglobingehalt eines Blutes von Belang ist, sondern daß außer ihm auch der mittlere relative Hämoglobinwert seiner Erythrozyten in Betracht kommt. Wir bringen diesen relativen Wert zum Ausdruck durch den sogenannten

Färbeindex

einen Faktor, welcher uns anzeigt, wieviel Hämoglobin durchschnittlich das einzelne rote Blutkörperchen des untersuchten Blutes besitzt im Verhältnis zu dem normalen Farbstoffgehalte des Erythrozyten, welcher mit 1 bezeichnet wird.

Berechnet wird dieser Färbeindex (FI) aus dem Verhältnis zwischen dem Hämoglobingehalte, welchen das untersuchte Blut tatsächlich hat (Hb), und demjenigen zunächst noch unbekannten Hämoglobinwerte x, welchen es haben sollte entsprechend der Zahl seiner Erythrozyten, vorausgesetzt, daß jeder einzelne von ihnen den normalen Farbstoffgehalt aufwiese. Demnach lautet die mathematische Formel:

$$\mathrm{FI} = \frac{\mathrm{Hb}}{\mathrm{x}}.$$

Wir können den Färbeindex eines Blutes nur dann berechnen, wenn wir seinen absoluten Hämoglobingehalt Hb und die Zahl seiner Erythrozyten Z tatsächlich kennen. Denn wir brauchen die Erythrozytenzahl Z zur Berechnung des x in der obigen Formel. Mit Hilfe von Z ist diese Berechnung eine sehr leichte, sie beruht auf der Anwendung einer einfachen Gleichung mit einer Unbekannten.

Im normalen Blute ist das Verhältnis von Erythrozytenzahl zum Hämoglobingehalt gleich 5,000.000 : 100; wäre in dem untersuchten Blute der FI gleich 1, so müßte die gegebene Erythrozytenzahl Z zu dem gesuchten Hämoglobingehalte x in dem gleichen Verhältnisse stehen wie 5,000.000 : 100. Daraus ergibt sich also die Gleichung:

$$5{,}000.000 : 100 = Z : x$$

und die Auflösung dieser Gleichung lautet:

$$x = \frac{Z \times 100}{5{,}000.000} = \frac{Z}{100.000} \times 2.$$

Ich habe jetzt absichtlich anstatt durch 100 nur durch 50 gekürzt, weil ich dann im Divisor eine einfachere Zahl bekomme, welche es ermöglicht, daß ich mir den gesuchten Hämoglobingehalt, welchen das Blut haben sollte, jederzeit sofort im Kopfe ausrechnen kann. *Ich brauche nur von der Zahl seiner Erythrozyten fünf Stellen als Dezimalen abzuschneiden und den so erhaltenen Wert mit zwei zu multiplizieren, und ich habe den Wert von x.* Diesen setze ich dann in die oben gegebene Formel zur Berechnung des Färbeindex ein und gewinne diesen, wenn ich den wirklich gefundenen Hämoglobingehalt des untersuchten Blutes durch den mittels Rechnung ermittelten Idealhämoglobingehalt dividiere.

Die beiden zur Berechnung des Färbeindex erforderlichen mathematischen Formeln lauten also noch einmal zusammengestellt:

$$FI = \frac{Hb}{x}$$

und

$$x = \frac{Z}{100.000} \times 2.$$

Beispiele.

Die Richtigkeit dieser Formeln können Sie gleich an den Zahlen des normalen Blutes erproben. Zwei andere Beispiele mögen für alle Fälle Klarheit bringen. Ein Blut hätte: Z = 3,600.000 und Hb = 24; FI? — Berechnung:

$$FI = \frac{24}{x} \text{ und } x = 36{,}00000 \times 2 = 72;$$

demnach ist:

$$FI = \frac{24}{72} = \frac{1}{3}.$$

Der Färbeindex ist also ein Drittel, d. h. im Durchschnitt hat jedes rote Blutkörperchen dieses Blutes nur ein Drittel des normalen Hämoglobingehaltes.

Ein anderes Beispiel. Z = 835.000, Hb = 20; FI? — Berechnung:

$$FI = \frac{20}{x} \text{ und } x = 8{,}35000 \times 2 = 16{,}7;$$

demnach ist:

$$FI = \frac{20}{16{,}7} = 1{,}2.$$

In diesem Blute hat also jedes rote Blutkörperchen im Durchschnitte 1,2mal soviel Hämoglobin wie im normalen Blute.

Der Färbeindex ist für den Gebrauch auf der Klinik eine bequeme Zahl, darum rechnet man ihn aus, obwohl schon die Nebeneinanderstellung der gefundenen Hämoglobin- und Erythrozytenwerte uns dasselbe sagt. Die präzise Zahl scheint uns die Sachlage anschaulicher zum Ausdrucke zu bringen. Wenn man, wie ich das oben empfohlen habe, einmal auch in der Klinik sich gewöhnen sollte, die Hämoglobinwerte in Gewichtsprozenten zum Ausdrucke zu bringen, dann würde die Formel etwas weniger einfach sein, und ich glaube, man würde die Berechnung des Färbeindex, die ja einem tieferen Bedürfnis nicht entspricht, sehr bald aufgeben. Vorläufig rechnen wir noch damit, und weil wiederum die Berechnung des Färbeindex erfahrungsgemäß den Anfängern viel Kopfzerbrechen macht, habe ich Ihnen die Formeln und deren Ableitung so sehr in die Einzelheiten gehend mitgeteilt. Gerne verfallen Anfänger in den Fehler, weil das am häufigsten sich so ergibt, immer die größere Zahl durch die kleinere zu dividieren, und sie berechnen dann in jenen Fällen,

wo der Färbeindex größer ist als 1 eine falsche Zahl. Es ist also besonders zu merken, daß immer der wirklich gefundene Hämoglobinwert Hb den Dividenden darstellt.

Ich komme nunmehr zur Besprechung einer Untersuchungsmethode, welche gerade in der neuesten Zeit immer mehr an Bedeutung und allgemeiner Verwendung gewinnt, zur

Leukozytenzählung.

Heute zählt nicht mehr nur der Hämatolog und Internist weiße Blutzellen, sondern mit besonderem Eifer zählen Chirurgen, Gynäkologen, Dermatologen und andere. Und was da zusammengezählt wird! Ich möchte um Gotteswillen nicht alle die Zahlen, die da für die Entscheidung: Operation oder nicht, Eiter oder nicht, mit mehr oder weniger Recht als maßgebend angesehen werden, und beileibe auch nicht einmal die Zahlen, welche jeden Augenblick als Beiträge zu diesen Fragen veröffentlicht werden, kontrollieren. Ich würde mir gar zu viele Feindschaften zuziehen, denn wirklich gut und verläßlich zählen kann gewiß kein gar zu großer Teil von all denen, die da zählen.

Die Leukozytenzählung hat aber nicht nur an sich eine immer mehr wachsende Bedeutung für Diagnose, Prognose und Therapie einer sehr großen Zahl von Erkrankungen, sondern sie stellt auch insoferne eine der wichtigsten Blutuntersuchungsmethoden dar, als man bei einiger Kenntnis und Aufmerksamkeit aus ihr weitaus mehr entnehmen kann als bloß die absolute Zahl der Leukozyten im Kubikmillimeter des untersuchten Blutes. Ich werde mich daher auch mit ihr sehr eingehend zu beschäftigen haben.

Für die Leukozytenzählung ist das Erythrozytenzählpräparat unter keinen Umständen ausreichend, weil die absolute Zahl der Leukozyten eine zu geringe ist. Wir haben normalerweise im Mittel 7—8000 weiße Blutkörperchen im Kubikmillimeter unseres Blutes, auf eine ganze Zeißsche Kammer entfallen sonach bei hundertfacher Verdünnung sieben bis acht Leukozyten, bei zweihundertfacher Verdünnung gar nur die Hälfte. Bei so niedriger Zahl ist natürlich eine Auswertung unstatthaft.

Wir müssen also trachten, für die Leukozytenzählung eine geringere Verdünnung zu wählen; sowie wir das aber

tun, erfüllen die in dichten Massen neben- und übereinander liegenden Erythrozyten das ganze Gesichtsfeld und verdecken entweder die Leukozyten ganz oder machen doch ihre Auffindung schwer und unsicher. Es wird uns also bei schwächerer Verdünnung zugleich die Aufgabe zufallen, die Erythrozyten für die Zählung unschädlich zu machen. Und das können wir nur durch solche Mittel erreichen, welche die Erythrozyten auflösen, beziehungsweise durch Hämoglobinentziehung zu wenig störenden Schatten machen, ohne daß dabei die weißen Blutkörperchen wesentlich gestört werden.

Zählflüssigkeit. Als eine diesen Anforderungen entsprechende Zählflüssigkeit wurde von Thoma eine $^1/_3$—$^1/_2$%ige Essigsäure empfohlen. Diese zerstört die Erythrozyten insoweit, daß nur mehr das Stroma als kaum sichtbare Scheibe bestehen bleibt, während das Hämoglobin in Lösung gegangen ist; sie bringt zugleich die Leukozytenkerne ein wenig zum Quellen, ohne deren Protoplasma zu zerstören, so daß die Leukozyten um so deutlicher hervortreten. Die Konzentration der Essigsäure kann auch etwas größer sein, z. B. 1%.

Sehr empfehlenswert ist es, die als Zählflüssigkeit zu verwendende Essigsäure mit Gentianaviolett oder weniger gut mit einem anderen Anilinfarbstoffe passend zu färben, zunächst deshalb, weil dann die Kerne gefärbt werden, aber auch aus vielen anderen Gründen, die ich später besprechen werde. Man erhält auf diese Weise eine Zählflüssigkeit, welche nicht nur die Erythrozyten unschädlich macht und die Leukozyten besonders deutlich und scharf hervortreten läßt, sondern auch die Erkennung vieler anderer Details ohneweiters ermöglicht. Ich verwende in diesem Sinne seit vielen Jahren ausschließlich eine Flüssigkeit von folgender Zusammensetzung:

Acidi acetici glacialis	3,0
Aq. destillatae	300,0
1%ige wässerige Gentianaviolettlösung	3,0

Es empfiehlt sich, die ungefärbte Essigsäurelösung sich aus der Apotheke zu verschreiben, die Färbung jedoch sich selbst zu machen, da man sie sonst niemals korrekt und konstant gemacht bekommt. Man gehe so vor, daß man sich ein- für allemal ein Fläschchen einer 1%igen wässerigen Gentianaviolettlösung

herrichtet. Mit 200 g hat man beinahe für ein Menschenleben genug. Man gibt dann je nach Bedarf mittels einer graduierten Pipette zu je 100 cm³ der 1%igen Essigsäure 1 cm³ der Lösung. Die Flüssigkeit ist lange haltbar, nur färbt sie nach längerem Stehen am Lichte infolge teilweiser chemischer Veränderung des Gentianaviolett nicht mehr so stark. Macht sich dies bemerkbar, so kann man durch Zusatz von einem oder zwei Tropfen der Gentianaviolettlösung die alte Färbekraft wieder herstellen.

Als Verdünnung empfiehlt sich für die Leukozytenzählung eine zehnfach geringere als sie für die Erythrozytenzählung angewendet wurde, also eine Verdünnung 1:10 oder 1:20. Zur Herstellung einer solchen bedürfen wir aber eines neuen

Fig. 10.



Schüttelmischer für Leukozytenzählung (²/₃ d. nat. Gr.).

Schüttelmischers, und dieser wurde nach der Angabe von Thoma in voller Analogie zu dem Mischer für die Erythrozytenzählung von Zeiß hergestellt und ist jedem vollständigen Blutzählapparate beigegeben. Schüttelmischer.

Sein Kapillarrohr hat einen viel größeren Rauminhalt, ist also viel weiter als das für die Erythrozytenzählung bestimmte; hingegen ist die Ampulle kleiner, denn sie faßt nur das Zehnfache des Kubikinhaltes der Kapillare. Die Kapillare ist wieder genau so in zehn gleiche Teile geteilt wie die früher beschriebene, an ihrem oberen Ende steht die Marke 1,0, in der Mitte die Marke 0,5; oberhalb der Ampulle aber befindet sich jetzt naturgemäß die Marke 11.

Die große Weite des Rohres hätte an sich einige Unbequemlichkeiten für die Handhabung; erstens ist das Aufsaugen etwas schwierig, und zweitens besteht jeden Augenblick die Gefahr, daß ein Teil des aufgesogenen Blutes vermöge der Schwere seiner

Säule wieder ausfließe. Aus beiden Gründen ist der Spitzenanteil der Kapillare durch Zeiß verjüngt worden zu einem fast kapillaren Rohre, und dieser Verjüngung entsprechend ist auch die Wandung des spitzen Anteiles dünner im Glase. Dadurch wird die Kapillare zwar etwas gebrechlicher, was aber nur für sehr unzarte Hände in Betracht kommt, hingegen wird das Aufsaugen und Einstellen der Blutsäule um ein Vielfaches leichter und genauer, und die Gefahr der Rückströmung wird eine geringere. So darf man sagen, daß auch die Leukozytenzählkapillare allen berechtigten Anforderungen entspricht.

Gebrauchsanweisung.

Bei der Herstellung der Blutverdünnung geht man genauestens so vor, wie ich es bei der Zählung der roten Blutkörperchen geschildert habe. Besondere Sorgfalt ist auch hier auf genaue Einstellung der Blutsäule zu richten, und weiters ist mit noch größerer Sorgfalt darauf zu achten, daß ja keine Spur des aufgesogenen Blutes zurückströme. Aus diesem Grunde ist auch hier grundsätzlich immer die Spitze der Kapillare mit dem Finger zu verschließen, und es muß speziell, wenn man die Pipette zum Aufsaugen der Zählflüssigkeit fast vertikal in diese bringt, bedingungslos darauf geachtet werden, daß man den Finger von der Spitze nicht eher lüfte, als bis man bereits durch leichtes Ansaugen in der Ampulle eine Luftverdünnung erzeugt hat. Sonst geht ganz sicher ein unbestimmbarer Teil des aufgesogenen Blutes verloren, und da die Zählflüssigkeit dunkel gefärbt ist, könnte das einem unaufmerksamen Arbeiter viel leichter entgehen als bei der Erythrozytenzählung.

Wahl der Verdünnung.

Bei der Wahl der Verdünnung halte ich mich an folgende Grundsätze, die ich auch Ihnen anzunehmen empfehle: Bei voraussichtlich oder bekanntermaßen normaler oder nur wenig erhöhter, sowie bei verminderter Leukozytenzahl verdünne ich immer 1:10; nur wenn ich sicher bin, daß eine beträchtliche Vermehrung der weißen Blutkörperchen („Leukozytose") vorliegt, gehe ich auf 1:20 herab, sauge also nur bis zur Marke 0,5 auf. Ist der zu erwartende Wert ein ganz auffällig hoher, etwa 40.000 oder 50.000 und darüber, so sauge man nur bis 0,3 auf.

Gehen die Werte noch wesentlich höher, über 100.000, hinaus, so ist es wohl am klügsten, zu der sonst zur Erythrozytenzählung verwendeten Pipette zu greifen und eine Verdünnung von 1:100, ja wenn 300.000 und mehr Zellen vorhanden sind, sogar eine Verdünnung von 1:200, natürlich aber mit gefärbter

Essigsäure, vorzunehmen. Dieser letztere Modus wird also bei den Leukämien, so lange sie die ihnen eigenen hohen Zahlen aufweisen, die Regel darstellen. Sie sind auch die einzigen Krankheiten, bei denen man eventuell die weißen Blutkörperchen im Zählpräparate der Erythrozyten mit diesen zugleich unter Anwendung der Hayemschen Flüssigkeit zu zählen vermöchte; ich empfehle jedoch dieses Verfahren nicht, aus Gründen, die noch später erörtert werden sollen.

Hat man nun genau in der früher beschriebenen Weise ein tadelloses Zählpräparat hergestellt, so finden sich bei zehnfacher Verdünnung und normaler Gesamtleukozytenzahl auf der ganzen Fläche der 1 mm² großen Zeißschen Kammer im Mittel etwa 70—80 Leukozyten; bei Leukozytose vielleicht 150—300, bei Verminderung der weißen Blutkörperchen („Leukopenie") aber nur 20—50. Das sind sehr geringe Zahlen, welche es allerdings zulassen, eine annähernd richtige Schätzung der im Kubikmillimeter des untersuchten Blutes enthaltenen Leukozytenzahl zu machen, welche aber für eine halbwegs genau sein sollende Zählung keineswegs ausreichen. Denn wir müssen noch immer mit Fehlern bis zu 10% und darüber rechnen. Wir brauchen aber aus den verschiedensten Gründen nicht nur eine annähernd richtige Schätzung der Leukozytenzahl, sondern eine wirkliche und genaue Zählung. Wir müssen daher mehr als eine Zeißsche Kammer zählen. Die Netzeinteilung der Zeißschen Kammer gibt uns hiefür keine weitere Handhabe mehr, wir müssen uns anders helfen.

In dieser Beziehung sind bisher von verschiedenen Autoren verschiedene Wege eingeschlagen worden. Die einen füllten mehrere Kammern, vier oder fünf, unmittelbar nebeneinander aus derselben Pipette und zählten sie nebeneinander durch, um aus den gefundenen Resultaten den Mittelwert als wirkliche Leukozytenzahl anzunehmen. Das ist gewiß ein untadeliges Vorgehen, aber man braucht eben vier oder fünf Zeißsche Kammern, die doch selbst klinische Institute nicht immer zur Verfügung haben.

Zählung nach Gesichtsfeldern.

Andere fanden einen anderen Ausweg: Sie benützten die Quadrateinteilung der Zeißschen Kammer nur dazu, um sich ein Gesichtsfeld von bekanntem Durchmesser durch Verschiebung des Mikroskoptubus einzustellen und dann viele solche Gesichtsfelder auf der Kammerplatte auch außerhalb der Netzeinteilung zu zählen. Es gelingt ja verhältnismäßig leicht, ein Gesichtsfeld

vom Durchmesser von 8 oder 10 Zwanzigstelmillimeter genau einzustellen und durch Multiplikation des Quadrates seines Halbmessers mit π erhält man den Flächeninhalt des Gesichtsfeldkreises. Zählt man nun 50 oder 100 solche Gesichtsfelder, so gelingt es leicht, eine genügende Zahl von Leukozyten zur Berechnung eines genauen Endresultates zu zählen. Als Hilfsmittel dazu, daß man nicht gleiche Präparatstellen wiederholt zähle, dient dann mit Vorteil die kreuzförmige Teilung der Zeißschen Kammer auch außerhalb ihres Zentrums. Man stellt zunächst so viel Gesichtsfelder als möglich der Reihe nach in den „Balken" des „Kreuzes" zur Durchzählung ein, geht dann in die vom Kreuze gebildeten Winkel über usw.

Aber auch diese Zählmethode hat ihre Schwierigkeiten und großen Mängel. Vor allem strengt sie ungemein an, da man sich bemühen muß, auch ganz am Rande des Gesichtsfeldes scharf zu zählen. Sodann sind Zählfehler namentlich in jenen Partien, wo keine Netzteilung vorhanden ist, und überhaupt dann, wenn viele Zellen im Gesichtsfelde liegen, auch bei der größten Sorgfalt kaum zu vermeiden. Und endlich hat man, wenn alles mit großem Aufwande von Zeit und Mühe gelungen ist, doch nur Stichproben aus einer großen Fläche gezählt, nicht aber eine zusammenhängende große Fläche selbst, wie das ohne Zweifel am meisten wünschenswert wäre.

Große Zählkammern (9 mm²).

Diese Gründe lassen auch die eben besprochene Zählmethode als unpraktisch erscheinen, und so bleibt uns nur der eine, allerdings, wie mir scheint, natürlichste Weg übrig, nämlich eine vergrößerte Kammer zur Leukozytenzählung zu verwenden.

Den Weg dazu gibt die Zeißsche Kammer mit ihrer Kreuzfigur selber an. Man braucht sich nur in der Entfernung von 1 mm an allen vier Seiten eine parallel zu dem betreffenden Rande der Zeißschen Kammer gezogene Gerade zu denken, und man erhält ein großes Quadrat von 3 mm Seitenlänge, also von 9 mm² Flächeninhalt, das in seinem Zentrum die Teilung der Zeißschen Kammer trägt und dessen Peripherie durch die weiter gezogenen „Kreuzbalken" in seine 8 mm² gut kenntlich zerlegt ist.

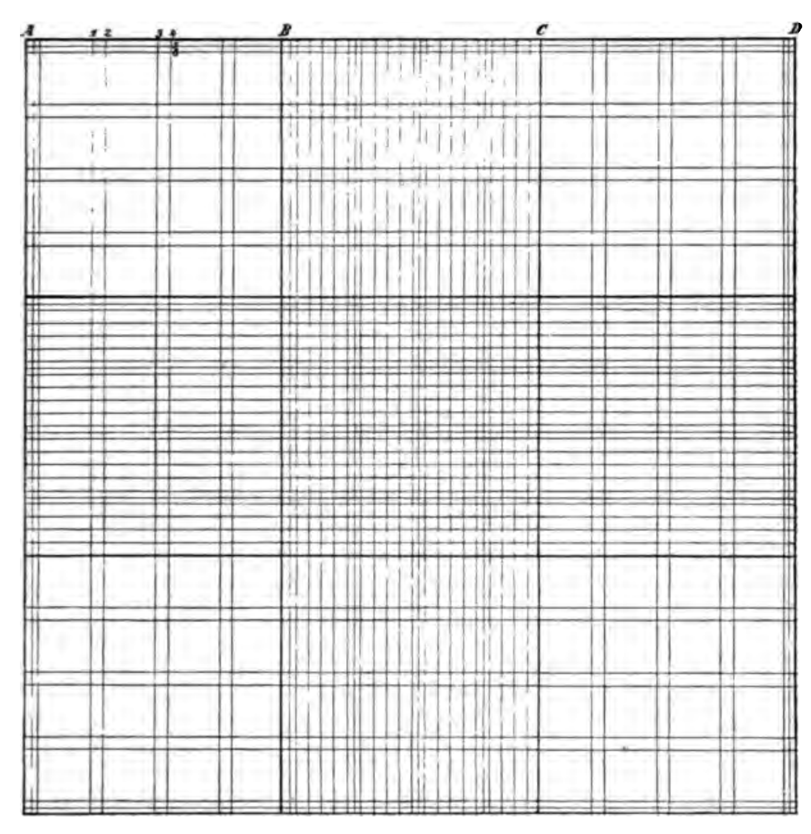
Kammern von Zappert und Elzholz.

So machte es Zappert. Da jedoch bei dieser Anordnung die vier in den Ecken gelegenen Quadratmillimeter für die Durchzählung nicht zu brauchen sind, brachte Elzholz sich noch vertikale Liniensysteme in Entfernung von abwechselnd $^1/_{20}$ und

$^4/_{20}$ mm an und teilte so auch die vier Eckquadrate in lange Rechtecke ein, so daß auch sie gezählt werden können.

Da aber auch die Kammer von Elzholz noch wesentliche Mängel hat und sich die Zählung in vielen Bezirken nicht be-

Fig. 11.



Leukozytenzählkammer nach Türk.

A-B = *B-C* = *C-D* = 1 mm, *1-2* = *3-4* = $^1/_{20}$ mm, *4-5* = *5-6* = $^1/_{40}$ mm.

quem und genau durchführen läßt, habe ich mir ein zweites horizontales Liniensystem von derselben Anordnung hinzufügen lassen, und aus diesen Bestrebungen ergab sich meine obenstehend abgebildete Leukozytenzählkammer*), welche Eigene Zählkammer.

*) W. Türk, Über Leukozytenzählung. Wiener klin. Wochenschrift. 1902, Nr. 28 und 29.

ich seit dem Jahre 1897 ausschließlich verwende. Sie ist seit Jahren bei Zeiß und Reichert erhältlich und entspricht meines Erachtens allen Anforderungen, die man an eine solche Kammer zu stellen berechtigt ist, und zwar unter allen nur möglichen Umständen. Ich glaube also, ihre allgemeine Anwendung im Interesse einer genauen und doch bequemen und schnellen Leukozytenzählung wärmstens empfehlen zu dürfen.

Die Kammer ist 9 mm² groß. Im Zentrum ist die gewöhnliche Einteilung der Zeißschen Zählkammer vorhanden, so daß die Kammer ohneweiters auch zur Erythrozytenzählung verwendet werden kann. Ja, sie eignet sich zur Zählung von sehr zellarmen Blutsorten hiefür sogar ganz besonders, weil sie es ermöglicht, mehrere Quadratmillimeter auf einer Kammerplatte zu zählen; denn auch die übrigen vier Quadratmillimeter des „Kreuzes" sind genug weit eingeteilt, um in ihnen verhältnismäßig spärlich liegende Erythrozyten ohne Schwierigkeit zählen zu können. Die außerhalb des Zentrums gelegenen 8 mm² sind verschieden genau eingeteilt, immer aber derart, daß das Gerippe der Quadratgruppierung in der Zeißschen Netzteilung aufrecht erhalten wurde. Jeder Quadratmillimeter ist anders eingeteilt als die unmittelbar angrenzenden, man kann sie also jederzeit leicht voneinander trennen. Und dabei sind auch in den am wenigsten weit eingeteilten vier Eckquadraten so viele Stützpunkte für das Auge vorhanden, daß Zählfehler vollkommen zu vermeiden sind, selbst wenn die Zahl der Zellen auf dem Kammerboden eine sehr beträchtliche wäre.

Zählkammer von Breuer.

Bald nach dem Erscheinen meiner Abhandlung über Leukozytenzählung hat auch Breuer*) eine von ihm konstruierte Zählkammer mitgeteilt. Sie ist ebenfalls 9 mm² groß und trägt eine durchaus gleichmäßig wagrecht gestellte Einteilung in Rechtecke von $^5/_{20}$ mm Breite (Höhe) und 1 mm Länge. In neuerer Zeit wird die Kammer von Zeiß auch mit Einzeichnung der Zeißschen Netzteilung in den zentralen Quadratmillimeter geliefert. Breuer findet meine Zählkammer zu kompliziert gebaut und meint, der Anfänger würde sich darin nicht auskennen.

Nun — allerdings muß man von jemandem, der Leukozyten mit einer neuen Kammer zählen will, verlangen, daß er sich die Kammer zuvor bei schwacher Vergrößerung (Zeiß A) unter

*) Breuer, Zur Technik der Leukozytenzählung. Berliner klin. Wochenschrift. 1902, Nr. 41.

dem Mikroskop ansehe und sich mit ihrer Konstruktion vertraut mache. Das ist auch für die einfache Zeißsche Kammer notwendig. Hat ein voller Neuling aber dies einmal mit meiner Kammer getan, so wird er schwerlich mehr über ihre Einteilung im Unklaren sein, und er müßte schon recht unachtsam zählen, wenn er sich einmal täuschen sollte. Ich halte das Vorhandensein von genügend zahlreichen Stützpunkten für das Auge senkrecht auf die Zählrichtung für unbedingt erforderlich, um Zählfehler zu vermeiden, insbesondere dann, wenn die Kammer dicht mit Zellen besetzt ist. Deshalb ist meines Erachtens die Beibehaltung der „Zähleinheiten höherer Ordnung" im Ausmaß von 25 kleinsten Quadraten ($^1/_{16}$ mm²) für eine allgemein brauchbare Leukozytenzählkammer unerläßlich, und ich muß daran entschieden festhalten. Wenn schon eine Vereinfachung meiner Zählkammer für besonders leicht verwirrbare Leute notwendig sein sollte, so könnte sie nur darin bestehen, daß meine Liniensysteme mit Ausnahme der beizubehaltenden Umrahmung durch einfache, in der Entfernung von $^5/_{20} = ^1/_4$ mm gezogene Linien ersetzt werden. Dagegen habe ich naturgemäß nichts einzuwenden, ich halte es aber für überflüssig.

Die großen Vorteile, welche man durch Verwendung einer derart vergrößerten Leukozytenzählkammer erreicht, sind folgende: 1. Die Zählung ist sehr bequem und rasch möglich. Die Zählung der ganzen Kammer dauert für einen halbwegs Geübten höchstens eine Viertelstunde, sie ist aber auch in zehn Minuten durchführbar. 2. Man zählt ohne Mühe eine sehr große, durchaus zusammenhängende Fläche durch und ist somit in der Lage, die Ungleichheiten in der Verteilung der Zellen auf dem Kammerboden weitaus am besten unschädlich zu machen. Die Zählung hat daher auch den größten bisher überhaupt erreichten Grad von Genauigkeit aufzuweisen. 3. Man kann nicht nur absolute Leukozytenzahlen bestimmen, sondern, wie später noch gezeigt werden soll, mit Vorteil auch eine teilweise Differenzialzählung einzelner Leukozytenarten in der genauesten und bequemsten Weise durchführen. Vorzüge der großen Kammern.

Für viele Zählungen ist es gar nicht einmal unumgänglich notwendig, alle 9 mm² zu zählen. Man soll sich nach meinen Erfahrungen bemühen, immer mindestens eine Zellsumme von 300—500 weißen Blutkörperchen der Berechnung zugrunde zu legen und darf sich nur dann Vorschriften für die Zählung.

mit einer geringeren Zahl begnügen, wenn trotz zehnfacher Verdünnung und Durchzählung der ganzen 9 mm² diese Zahlen infolge hochgradiger Leukopenie nicht erreicht werden. Bei normaler oder leicht erhöhter Leukozytenzahl erreicht man aber diese Werte leicht schon bei Durchzählung von 5 mm², die man wieder nach Belieben, am besten aber aus allen verschiedenen Teilen der Kammer wählt. Ich habe das früher des öfteren getan, seit einigen Jahren jedoch tue ich es nicht mehr. Ich zähle jetzt nämlich in allen Fällen, wenn nicht gar zu übermäßig viele Zellen vorhanden sind, die ganzen 9 mm² durch und brauche kaum eine merkliche Zeit mehr hiefür als sonst für 5 mm². Man muß es nur praktisch anfassen bei der Zählung, dann geht es unglaublich schnell.

Ich pflege so vorzugehen, daß ich mir zunächst die linke obere Ecke der Kammer ins Gesichtsfeld stelle. Ich wähle nunmehr als Zähleinheit den dem linken Kammerrand entlang herablaufenden Streifen von $^5/_{20}$ ($^1/_4$) mm Breite, welcher bequem in der Mitte des Gesichtsfeldes Platz findet. Ich zähle fortlaufend die ganzen drei Millimeter der Kammerlänge herab, verschiebe dann die Kammer um $^5/_{20}$ mm nach links und zähle den nächsten Streifen von $^5/_{20}$ mm Breite von unten nach oben, dann den dritten Streifen wieder nach unten und den vierten nach oben zu. Erst wenn ich auf diese Weise das ganze linksseitige Drittel der Kammer fortlaufend durchgezählt habe, pflege ich mir die gefundene Zahl zu notieren. Nur wenn die Zellenzahl eine ausnehmend große war, mache ich bereits nach der Durchzählung des zweiten Streifens eine Notiz. In der gleichen Weise zähle ich das mittlere und das rechte Drittel der Kammer durch.

Sie begreifen, daß das bei einiger Übung rasend schnell geht. Man übt seine linke Hand bald so gut darin, die Kammer zu führen, daß ein verschiebbarer Objekttisch für dieses Verfahren direkt als ein Hindernis erschiene. Ich muß nur auf folgendes aufmerksam machen. Ein Streifen von $^5/_{20}$ mm Breite, wie ich ihn eben besprochen habe, besteht aus zwei Rechtecken, von denen eines $^1/_{20}$ und das zweite $^4/_{20}$ mm Breite hat. Im linken und mittleren Kammerdrittel sind nun, wenn die Kammer genau so aufgekittet ist, wie es meine Zeichnung zeigt, im Gesichtsfelde die Rechtecke von $^1/_{20}$ mm Breite links und die von $^4/_{20}$ mm Breite rechts daneben gelegen. Wenn man zum rechtsseitigen Drittel der Kammer übergeht, kehrt sich dieses Verhältnis um. Es er-

gibt sich das als selbstverständlich, wenn man die Kammerteilung analysiert, aber ich mache Sie darauf aufmerksam, damit nicht jemand im Anfange stutzig werde oder sich irre. Der Rand der Kammer ist überall dadurch kenntlich gemacht, daß die äußerste Rechteckreihe von $^1/_{20}$ mm Breite so wie bei der Zeiß-schen Kammer wieder durch eine Linie in der Mitte nochmals geteilt ist; so weiß man immer genau, wenn man am Rande anlangt. Erst die äußerste Linie bedeutet den eigentlichen Rand der Kammer.

Berechnung

Die Berechnung ist genau nach denselben Grundsätzen durchzuführen wie bei der Zählung der roten Blutkörperchen, also wiederum nach der allgemein gültigen Formel:

$$Z = n \times \frac{1}{Vd} \times \left(\frac{1}{H} \times \frac{1}{Fl}\right).$$

Sie gestaltet sich aber noch einfacher, weil eben die durchgezählte Fläche immer ein Vielfaches der Einheit ist; sie beträgt ja bei Zählung der ganzen Kammer 9 mm², bei Zählung von fünf ihrer neun gleichen Teile aber 5 mm².

Das einfache Einsetzen der bekannten Werte in die obige Formel ergibt, daß man bei Zählung der ganzen Kammer die gefundene Leukozytenzahl mit $^{100}/_9$ oder $^{200}/_9$ zu multiplizieren hat, je nachdem, ob man zehnfach oder zwanzigfach verdünnte; und bei Durchzählung von 5 mm² hat man gar je nach der Verdünnung die erhaltene Zellsumme nur mit 20 oder 40 zu multiplizieren. Einfacher geht es schon nimmer. Hat man z. B. die Vernünnung 0,3 gewählt, so ist die gefundene Zahl mit $^{100}/_9 \times {}^{10}/_3$ zu multiplizieren, d. h. es sind drei Nullen anzuhängen und dann ist durch 27 zu dividieren. Das wiederum ist das Komplizierteste, was überhaupt hiebei an Rechnerei möglich ist. Ich glaube, auch diese Arbeit wird selbst ein Feind aller Mathematik nicht zu schwierig finden und gerne leisten.

Reinigung der Mischpipette.

Nach Vornahme der Zählung sind die verwendeten Apparate in gleicher Weise sofort zu reinigen, wie das beim Instrumentarium für die Erythrozytenzählung besprochen wurde. Ich muß nur auf eines aufmerksam machen. Wenn man den Schüttelmischer für Leukozytenzählung mit dem Reste der Füllung während der Vornahme der Zählung liegen läßt, so bildet sich gewöhnlich in der engen Spitze der Kapillare ein Pfropf, der

dann durch Ausblasen nicht mehr entfernt werden kann. Man muß in diesem Falle den dünnen Draht einer Pravazschen Nadel dazu verwenden, den Pfropf zunächst zu lockern und ihn dann durch das weitere Ende der Pipette ausblasen. Klüger wird es dieserhalb und aus anderen Gründen sein, die Füllung sogleich aus der Pipette zu entfernen, wenn man sich von der Brauchbarkeit des hergestellten Zählkammerpräparates überzeugt hat. Es empfiehlt sich dies nämlich auch deshalb, damit nicht der Farbstoff an den Wänden der Kapillare und der Ampulle sich zu sehr festsetze. Durch Alkohol wird der Farbstoff übrigens leicht wieder entfernt. Noch mehr wie bei der Pipette zur Erythrozytenzählung empfiehlt sich auch hier von Zeit zu Zeit eine gründliche Reinigung mittels Kalilauge und Silberdraht.

Genauigkeit der Methode.

Durch die Verwendung einer 9 mm² großen Zählkammer ist endlich die Leukozytenzählung zu einer Genauigkeit gebracht worden, welche sie als eine der exaktesten Blutuntersuchungsmethoden erscheinen läßt, und sie ist dabei so leicht und bequem durchführbar geworden, daß auch ein Ungeübter in kürzester Zeit genaue und durchaus verläßliche Resultate erzielen kann. Die Fehlerberechnungen, welche ich seinerzeit bei der Ausprobierung meiner Zählkammer machte, haben ergeben, daß der mittlere Fehler meiner Zählungen im Durchschnitte etwa 3%, der wahrscheinliche Fehler aber nur 2% beträgt, während noch Reinert, der nach Gesichtsfeldern zählte, trotz der sicher peinlichsten Arbeit einen mittleren Fehler von mehr als 7% und einen wahrscheinlichen Fehler von mehr als 5% auswies. Dieser hohe Grad von Genauigkeit der Zählung nach meinen Angaben erklärt sich ohneweiters aus der sehr großen Zahl von Leukozyten, welche zur Grundlage der Berechnung gemacht werden. Es kommt sehr selten vor, daß ich in meiner Kammer weniger als 300 Zellen zähle, gewöhnlich zähle ich 500 bis zu 1000 Zellen und oft auch mehr — mehr insbesondere bei allen Fällen von wesentlicher Leukozytose und bei Leukämien. Reinert hatte es hingegen bei seiner Methode trotz Durchmusterung von 100 Gesichtsfeldern nur auf 100—200 Zellen gebracht.

Mit Rücksicht auf die große Bedeutung der Leukozytenzählung ist es meines Erachtens unumgänglich notwendig und allgemein zu fordern, daß ihre Ergebnisse auch unter allen Umständen den erreichbaren Grad von Genauigkeit aufweisen. Ich halte also dafür, daß zur Leukozytenzählung ganz allgemein nur

große Zählkammern von hinreichender Einteilung benützt werden dürfen, und daß mit allen den unzulänglichen Methoden, welche bisher leider Gottes noch immer am meisten angewendet werden, gründlich aufgeräumt werden müsse. Erst wenn die großen Leukozytenzählkammern sich allgemein werden eingebürgert haben, wird man den Leukozytenzählungen auch allgemeineres Vertrauen entgegenbringen können, und dann werde ich die eingangs der Besprechung unserer Methode niedergelegten boshaften Sätze mit Vergnügen verschwinden lassen. Ein vollständiger Blutkörperchenzählapparat sollte schon längst nicht nur zwei Mischpipetten, sondern auch zwei Zählkammern, von denen wenigstens die eine die 9 mm² große Netzteilung aufweist, enthalten.

Morphologische Untersuchung i Zählpräparate.

Das Leukozytenzählpräparat soll aber ja nicht bloß zur Bestimmung des absoluten Leukozytenwertes benützt werden. Wir können vielmehr bei einiger Aufmerksamkeit aus ihm so viel entnehmen, daß die Leukozytenzählung uns eine ganze Reihe mühsamer und zeitraubender Untersuchungen an gefärbten Präparaten ersetzt, die klinische Blutuntersuchung in einem ganz ungeheuren Grade erleichtert und die Schnelligkeit ihrer Durchführung um ein Vielfaches fördert.

Durch die Anwendung der passend mit Gentianaviolett gefärbten Zählflüssigkeit gelingt es nämlich zunächst, die Kerne aller Leukozyten zu klarem Hervortreten zu bringen, und zum Teile auch deren Protoplasma in einem verschiedenen Grade zu beeinflussen, so daß es ungemein leicht wird, selbst bei Verwendung der gewöhnlichen Zählvergrößerung von etwa 200 (Zeiß Objektiv C, Okular 3) *die meisten Leukozytenarten des normalen Blutes voneinander* in einer ebenso sicheren Weise *zu trennen* als bei der viel zeitraubenderen und mühsameren Untersuchung im gefärbten Trockenpräparate. Außerdem wird es ermöglicht, bei entsprechender Übung auch pathologische Leukozytenarten sowie kernhaltige Erythrozyten, an ihrer Pigmentierung auch Malariaparasiten zu erkennen, somit ihre Anwesenheit und vielfach auch ihre Art in dem untersuchten Blute festzustellen und sie zu zählen, soferne das einen Zweck hat. Ich bemerke nur noch, daß zur Erzielung einer scharfen Kerndifferenzierung im Zählpräparate eine starke Beleuchtung sehr zu empfehlen ist; entweder weißes Licht von einer hellen Wolke oder noch besser Auerlicht.

Leukozyten-Differenzialzählung.

Das, was auch der wenig Geübte sehr leicht begreift und lernt, wenn er nur einmal die wesentlichen Eigenschaften der verschiedenen Leukozytenarten überhaupt kennen gelernt hat, ist die Unterscheidung der im folgenden zu besprechenden Leukozytenarten des normalen Blutes in der Zählkammer und ihre Differenzialzählung. Anfangs mag er immerhin, bis daß er eingearbeitet ist, eine etwas stärkere Vergrößerung zu Hilfe nehmen, bei deren Gebrauch die Verhältnisse noch viel klarer liegen: Bei Verwendung eines $^4/_{10}$ mm dicken Deckglases leistet hiefür die Linse DD von Zeiß die glänzendsten Dienste.

Vor allem ist es der Kern der weißen Blutkörperchen, welcher in der Zählkammer, durch die Gentianaviolettfärbung hervorgehoben, sich scharf abgrenzt und leicht zu charakterisieren ist. Wir können ohneweiters die polymorphen Kerne der neutrophilen und eosinophilen Zellen von den einfachen und runden Kernen der Lymphozyten trennen, und können die Träger beider Kernformen ohne Mühe nebeneinander zählen.

Normale Leukozytenarten.

Von den einkernigen Zellen sind besonders die Lymphozyten gut gekennzeichnet. Ihr Kern ist klein, rund oder einfach oval oder leicht nierenförmig, scharf abgegrenzt, und ihr Protoplasma ist entweder gar nicht oder als ganz schmaler, kaum andeutungsweise gefärbter Saum zu sehen. Die polymorphkernigen Zellen hingegen sind an ihrem unregelmäßig gestalteten, gut gefärbten und scharf abgegrenzten Kerne ohneweiters erkennbar; ihr Protoplasma ist gewöhnlich nur als heller, aber doch rundlich abgegrenzter Hof um den Kern sichtbar.

Leider ist es nicht möglich, die neutrophile oder eosinophile Granulierung des Protoplasmas zu erkennen, wir können also lediglich „polymorphkernige" Zellen erkennen und zählen, ohne über die Granulierung ihres Protoplasmas Auskunft zu geben. Sehr scharf sind hingegen die Mastzellen von allen übrigen Zellformen abgegrenzt. Sie haben eine basophile Granulation, welche sich kräftig mit Gentianaviolett färbt. Diese Farbe wird auch aus der Zählflüssigkeit von den Mastzellen in einem ganz besonders starken Maße aufgenommen, so daß die ganze Zelle, Kern und Protoplasma, zumeist ziemlich gleichmäßig dunkelblau bis violett gefärbt erscheint, viel stärker als alle übrigen Zellen. Nur bei genauem Zusehen oder noch deutlicher bei Verwendung einer stärkeren Linse (DD Zeiß) kann man in dieser oft etwas

unregelmäßig begrenzten blau bis violett gefärbten Masse undeutlich den Kern wahrnehmen, während doch bei allen übrigen Leukozyten der Kern scharf hervortritt und das Protoplasma wenig oder gar nicht gefärbt ist. Dadurch ist die Erkennung der Mastzellen ungemein leicht gemacht, und auch der Anfänger befreundet sich bald mit ihnen.

Etwas schwieriger, aber immerhin auch noch gut durchführbar ist die Unterscheidung der ungranulierten großen mononukleären Leukozyten und Übergangsformen. Unsichere Exemplare der ersteren können mit Lymphozyten, der letzteren mit polymorphkernigen Zellen verwechselt werden, was schließlich auch im Trockenpräparate trotz Immersion einem weniger Geübten ebenso oft passiert. Der Geübte wird aber auch im Zählpräparate über die Unterscheidung nur bei wenigen Zellen in Zweifel sein. Die großen mononukleären Leukozyten sind nämlich wesentlich größer als Lymphozyten, haben einen größeren, weniger scharf abgegrenzten und weniger stark gefärbten Kern und zeigen ein viel deutlicher hervortretendes, spurweise bläulich gefärbtes, ziemlich großes Protoplasma. Die Übergangsformen zeigen ganz die gleichen Eigenschaften, nur ist ihr Kern mehr oder weniger deutlich gelappt.

Für die Kennzeichnung des Leukozytenbildes kommen unter normalen oder doch annähernd normalen Verhältnissen von allen Zellarten ja nur die polymorphkernigen Neutrophilen und die Lymphozyten in Betracht; und die eine Zellart von ihnen, die Lymphozyten, können wir nach dem Vorausgeschickten ganz leicht und sicher von allen anderen Zellen trennen, somit auch zählen. Habe ich aber die Lymphozyten gezählt, so hat es unter gewöhnlichen Verhältnissen gar keinen besonderen Zweck, auch die polymorphkernigen Zellen zu zählen. Aus dem Zählpräparate ersehe ich, ob eine auffallende Vermehrung der großen mononukleären Leukozyten besteht oder nicht, aus dem zweckmäßig immer zugleich mit dem Zählpräparate hergestellten und sehr rasch zu überblickenden Nativpräparate kann ich beurteilen, ob die eosinophilen Zellen irgendwie wesentlich verändert sind oder nicht. Ist beides nicht der Fall, so bilden polynukleäre Neutrophile und Lymphozyten zusammen gewiß 90%, zumeist sogar 92 oder 93% der gesamten Leukozytenzahl, und wenn ich den Wert des einen von den beiden Teilen zahlenmäßig festgelegt habe, so kann ich mir den anderen ungefähr berechnen, zumal

es durchaus gleichgültig ist, ob das Blut 67 oder 70%, oder ob es 82 oder 85% Neutrophile enthält. Von praktischem Werte ist vor allem die Lymphozytenzahl und der sich aus ihr allein ergebende Umstand, ob die Neutrophilen prozentisch wesentlich vermehrt oder normal oder vermindert sind.

Um das alles noch einmal zusammenzufassen: Wenn sich aus dem Leukozytenzählpräparate ergibt, daß die großen mononukleären Leukozyten mit Übergangsformen und die Mastzellen keine wesentliche Veränderung aufweisen, und wenn ein rasch gewonnener Überblick über das frische Blutpräparat eine Vermehrung der Eosinophilen nicht erkennen läßt, so ist eine zahlenmäßige Feststellung des prozentischen Lymphozytengehaltes vollständig ausreichend, um sich ein klares Urteil über die Leukozytenverhältnisse des untersuchten Blutes zu bilden, da man sich aus dem Lymphozytenwerte unter diesen Verhältnissen ein ganz hinreichend genaues Urteil über die ungefähre Zahl der Neutrophilen zu bilden vermag.

Der Lymphozytenwert aber läßt sich im Leukozytenzählpräparate zum allermindesten mit derselben, sicher sogar mit einer weitaus größeren Genauigkeit feststellen, als durch die noch später zu besprechende Methode der Differenzialzählung im gefärbten Trockenpräparate.

Man geht so vor, daß man zunächst die Gesamt-Leukozytenzahl in der ganzen Kammer bestimmt. Sie sei z. B. 640. Hiebei kann man sich, wie ich das immer tue, gleich die nur selten vorkommenden normalen oder die etwa vorhandenen pathologischen Zellarten notieren, z. B. 3 Mastzellen. Dann geht man von Anfang an noch einmal die ganze Kammer durch, zählt aber nur die Lymphozyten. Ihre Zahl sei 160. Wenn ich zehnfach verdünnt hatte, so beträgt in unserem Beispiele die Gesamtleukozytenzahl, auf die Hunderte abgerundet, wie sich das empfiehlt, 7100; die Lymphozyten machen unter den Leukozyten genau 25% aus, die Mastzellen etwa $^1/_2$%; wenn nun an großen Mononukleären und Eosinophilen nichts besonderes vorliegt, wovon ich mich leicht überzeugen kann, so darf ich überzeugt sein, daß auch der Wert der Neutrophilen ein normaler, etwa 65—70%, sein wird.

Es ist mir auch ein Leichtes, und ist gewiß wieder genauer als im Trockenpräparate, die absolute Zahl der Lympho-

zyten festzustellen. In unserem Beispiele beträgt sie 1800, ist also ebenfalls normal. Ganz wunderschön sind im Zählpräparate auch die gewöhnlichen, z. B. infektiösen Leukozytosen gekennzeichnet. Man sieht, wie ungeheuer die polymorphkernigen Zellen überwiegen, und kann durch eine kurze Zählung der Lymphozyten, die dann immer nur spärlich vertreten sind, von dieser überragenden relativen und absoluten Vermehrung der polynukleären Zellen ein zahlenmäßiges Bild bekommen, indem man nicht nur die stets vorhandene Verminderung des relativen, sondern sehr häufig auch eine Herabsetzung des absoluten Wertes der Lymphozyten feststellen kann.

Ist eine besonders auffällige Veränderung der großen Mononukleären vorhanden, was selten zutreffen wird, dann kann ich mich dessen sehr gut vergewissern, indem ich sie (mit Einschluß der Übergangsformen) ebenfalls zähle; und das ist in der Kammer ohneweiters ebenso genau wie im Trockenpräparate möglich. Nur wenn die Eosinophilen in einem so hervorragenden Grade vermehrt sind, daß sie einen wesentlich ins Gewicht fallenden Teil der polynukleären Leukozyten ausmachen, was wohl höchstens dem Dermatologen häufiger vorkommen dürfte, nur dann ist die Differentialzählung im Leukozytenzählpräparate unzulänglich, und man muß zu anderen Methoden greifen, um die polynukleären Zellen untereinander zu trennen.

Pathologische Zellarten sind zwar auch für den Mindergeübten ziemlich leicht als etwas Abnormes im Zählpräparate zu erkennen, und er wird so auf ihr Vorhandensein aufmerksam werden; ihre Differenzierung aber ist Sache einer großen Übung und Erfahrung, die sich erst nach längerer Beschäftigung mit hämatologischen Methoden gewinnen läßt. Pathologische Leukozytenarten.

Am leichtesten sind noch die typischen Myelozyten zu erkennen, namentlich wenn sie die ihnen so gewöhnlich zukommende abnorme Größe besitzen. Sie haben dann einen gut abgegrenzten und recht gut gefärbten, oftmals mit zwei bis drei dunkleren Pünktchen ausgestatteten, einfachen, runden oder ovalen Kern und ein ziemlich großes, etwas ungleichmäßig aber deutlich mit Gentianaviolett gefärbtes Protoplasma. Verwechslungen aber, namentlich mit den später zu beschreibenden Reizungsformen, sind nicht immer zu vermeiden. Myelozyten.

Im Blute der myeloiden Leukämie wird man die ungemeine Polymorphie des Leukozytenbildes auch im Zählpräpa- Myelämie.

rate sehen und wird nicht nur die Diagnose der Erkrankung ohneweiters zu stellen, sondern sich auch ein ziemlich gutes Bild von den Detailverhältnissen zu bilden vermögen. Mit der Differenzierung der einzelnen pathologischen Zellformen aber muß man, die ganz besonders typischen Myelozyten ausgenommen, zurückhalten. Ziemlich leicht dagegen ist es, den Wert der hier regelmäßig stark vermehrten Mastzellen mit beträchtlicher Genauigkeit festzustellen.

Lymphämie. Ein durchaus typisches und unverkennbares Bild geben die lymphämischen Befunde: Nichts als Lymphozyten im weiten Felde, nur hie und da versprengt eine andere Zelle. Ich muß gleich betonen, daß man hiebei die Feststellung der Lymphozytenverhältniszahl niemals im Trockenpräparate auch nur annähernd so gut zu machen vermag als wie im Leukozytenzählpräparat. Denn bei der Präparation wird immer ein ganz verschiedener Teil der Lymphozyten zerstört, während in der Zählkammer die Zellen durchaus gut erhalten geblieben sind. Aber hier zählt man klugerweise nicht so wie sonst; da müßte man ja fast die ganze Zellmasse doppelt zählen. Da ist es viel schlauer, man zählt nach Feststellung der Gesamtleukozytenzahl die Summe derjenigen Zellen, welche nicht Lymphozyten sind, und kann daraus mit viel weniger Mühe und Zeitaufwand haarscharf die Zahl der Lymphozyten selbst bestimmen.

Die ungewöhnlich großen Lymphoidzellen der akuten Lymphomatosen sind in ihren Extremen durchaus nicht leicht oder überhaupt nicht im Zählpräparate als solche zu erkennen; man wird nur sagen können: Das sind atypische große einkernige Zellen, die muß ich im Trockenpräparate differenzieren. Und auch das ist schon ein wesentlicher Gewinn.

Die roten Blutkörperchen sind im essigsauren Leukozytenzählpräparate zu Schatten gemacht, aber nicht zerstört. Die Schatten sind anfänglich sehr undeutlich sichtbar, treten aber nach längerem Liegen der Präparate wieder deutlicher hervor und bilden einen gelblichen, geringelten Hintergrund für die sich blau abhebenden Leukozyten. Sehr gut erhalten bleiben von den Erythrozyten vor allem die kernhaltigen, insofern wenigstens, als ihr Kern ebensogut gefärbt wird wie jener der Leukozyten. Und da sich dieser Kern von den Leukozytenkernen fast immer sehr

Kernhaltige Rote. deutlich unterscheidet, ist man auch ohneweiters in die Lage versetzt, zu erkennen, daß und wie viel kernhaltige Ery-

throzyten in dem untersuchten Blute vorhanden sind. Ich spreche hiebei nur von Normoblasten; Megaloblasten sind für einen Geübten zwar auch zu erkennen, doch ist es klüger, sich auf sie nicht einzulassen. Der Normoblastenkern aber ist auffällig klein, viel kleiner als der ebenfalls einfache Kern eines Lymphozyten, viel stärker, leuchtender blau gefärbt als dieser und ungemein scharf durch eine schwarze Randlinie begrenzt. Das Stroma der Zellen ist als farbloser Ring mehr oder weniger undeutlich zu sehen. Man kann also typische Normoblasten ohneweiters im Leukozytenzählpräparate erkennen, kann somit weitaus leichter als im Trockenpräparate ihre Anwesenheit im untersuchten Blute feststellen, und wenn sich eine größere Zahl vorfindet, so kann man sie auch in verläßlicher Weise zählen.

Außerdem ist es auch möglich, hohe Grade von Polychromatophilie einzelner Erythrozyten, wie sie insbesondere bei perniziöser Anämie vorkommen, im Leukozytenzählpräparate zu erkennen. Während sonst die Erythrozytenschatten farblos sind, nehmen die polychromatophilen Zellen in ihr Stroma geringe Mengen von Gentianaviolett auf und erscheinen dann ähnlich matt gefärbt wie etwa das Protoplasma eines großen mononukleären Leukozyten; oftmals kann man auch die Ungleichmäßigkeit der Polychromasie im Inneren der Zelle erkennen. Polychromasie

Und zum Schlusse muß ich noch auf einen Befund von der größten praktischen Wichtigkeit aufmerksam machen: Man kann auch die Malariaparasiten, soweit sie hinreichend groß geworden sind und eine ausreichende Pigmentierung besitzen, im Leukozytenzählpräparate mit voller Sicherheit erkennen. Es ist ihre Erscheinung so auffällig, daß ich sie gleich bei der ersten Zählung eines Malariablutes erkannte und sofort auch zählte. „Sporen" natürlich und die ganz jungen Formen entziehen sich der Erkennung; die mittelgroßen und namentlich die großen Formen, etwa Tertiana oder Quartana kurze Zeit vor der Segmentation, die Segmentationskörper und die Halbmonde sind mit voller Sicherheit und ungemein leicht zu finden und zu erkennen. Malariaplasmodien

Es hat das deswegen eine so große Bedeutung, weil es bei spärlicher Zahl von Parasiten im Blute oft schwer und mühsam ist, sie im Nativ- oder Trockenpräparate zu finden. Sind Massen von Parasiten vorhanden, so findet man sie spielend leicht in jedem Präparate, insbesondere auch im frischen; dann braucht

man das Zählpräparat nicht zur Diagnose. Wenn aber wenige vorhanden sind und wenn es sich überhaupt fragt, ob eine Malaria vorliegt oder nicht, dann ist die Untersuchung des Leukozytenzählpräparates nicht genug hoch zu schätzen. Man geht dann am besten in der Weise vor, daß man ein Präparat ausnahmsweise mit einem gewöhnlichen, dünnen Deckglase eindeckt, um es auch mit stärkerer Vergrößerung ansehen zu können. Der Geübte erkennt zwar schon mit der C-Linse die typischen Plasmodien sicher; aber es kann sein, daß ein Gebilde gefunden wird, das zweifelhaft ist, und dann möchte man stark vergrößern, was beim gewöhnlichen Deckglase der Zählkammer nicht geht. Mit dem dünnen Deckglase aber kann man leicht E oder auch die Immersion verwenden und sich dann in allen Fällen Klarheit verschaffen. Schon mit DD kann man, namentlich bei guter und greller Beleuchtung, zumeist sehen, daß die bei schwacher Vergrößerung ungleichmäßig bräunliche Masse des Parasiten eine große Reihe feiner brauner Punkte enthält, welche die Färbung des Ganzen bedingen: das Pigment. Man sieht auch, daß diese pigmentierte Masse in einem Erythrozytenstroma eingeschlossen ist, man sieht eventuell ihre unregelmäßige Gestalt, und die Diagnose des Plasmodiums ist sichergestellt. Besonders schöne Bilder geben die Segmentationskörper und bei den ästivoautumnalen Fiebern die Halbmonde. Bei diesen letzteren werden zugleich die Halbmonde die einzigen Parasitenformen sein, welche mittels des Zählpräparates im Blute überhaupt nachgewiesen werden können, da die „Ringe" unsichtbar bleiben müssen.

Ebenso wie für die Diagnose kann man die Beobachtung im Zählpräparate auch zur Beurteilung der Wirksamkeit der Therapie bei Malaria verwenden. Unter Chininwirkung verschwinden die gewöhnlichen Parasiten sehr rasch aus der Kammer, andererseits aber kann man die Hartnäckigkeit der Halbmonde auch gegenüber der strengsten Chininbehandlung mit Hilfe der Zählkammer am instruktivsten nachweisen; schließlich ist auch ihr Verschwinden durch wiederholte Untersuchungen in der Zählkammer am einwandfreiesten festzustellen.

In dieser Weise nutzbar gemacht, wäre also die Untersuchung eines nach meinen Vorschriften hergestellten Leukozytenzählpräparates eine beinahe ideale Blutuntersuchungsmethode, wenn es noch gelänge, auch die eosinophilen Zellen zu erkennen. Das

ist mir aber leider nicht möglich geworden; zwar kann es hie und da gelingen, im Blute myeloider Leukämie einen eosinophilen Myelozyten als solchen zu erkennen, dann beruht aber seine Erkennung eben auf pathologischen Eigenschaften seines Protoplasmas und seiner Granula, welche den gewöhnlichen Eosinophilen durchaus fehlen und auch nicht allen eosinophilen Myelozyten zukommen.

Unter gewöhnlichen Verhältnissen läßt sich dieser einzige Mangel der Methode leicht verschmerzen, und eine kurze Übersicht über ein Nativpräparat des Blutes beseitigt alle Zweifel. Aber für die allerdings selteneren Fälle einer wesentlichen Bedeutung der eosinophilen Zellen im Blute, insbesondere für die Fälle von Eosinophilie, ist zur Kennzeichnung des ganzen Blutbildes eine Ergänzung der Untersuchung des Leukozytenzählpräparates durch eine gesonderte Zählung der Eosinophilen erforderlich.

Leukozytenzählung nach Zollikofer.

Da hat nun vor etwa vier Jahren Zollikofer*) eine Methode für die „Kammerfärbung der Leukozyten" angegeben, welche es ermöglicht, auch die Eosinophilen in ihrem relativen und absoluten Zahlenverhältnisse festzustellen, und zwar neben den anderen Leukozytenarten. Die Methode gibt leider noch nicht so durchwegs klare und schöne Bilder, daß ich sie anstatt der meinen überhaupt zur Leukozytenzählung und Leukozytendifferentialzählung zu empfehlen vermöchte. Vielleicht wird das einmal durch eine Ausgestaltung des Verfahrens ermöglicht. Vorläufig kann ich nur eines empfehlen: Spielen die Eosinophilen in dem untersuchten Blute eine wesentliche Rolle, so mag man außer dem gewöhnlichen Leukozytenzählpräparate, das über alle sonstigen Verhältnisse einen wesentlich klareren Überblick gibt, auch noch ein Zählpräparat nach Zollikofer herstellen und dieses dazu benützen, den relativen und absoluten Wert der Eosinophilen und eventuell auch der Neutrophilen zu bestimmen. Lymphozyten, Mastzellen und gelegentlich auch große mononukleäre Leukozyten, Myelozyten, kernhaltige Erythrozyten usw. beurteile man aber auch dann nach dem mit der gefärbten Essigsäure hergestellten Zählpräparat. So wäre die vollständige Orientierung in diesen Fällen, allerdings mit Zuhilfenahme zweier Leukozytenzählungen, erreicht. Kommt es einem in diesem Falle im wesentlichen aber nur auf die Gesamt-

*) Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie. 1900.

zahl und die Differentialzählung der Eosinophilen und Neutrophilen an, so kann man sich schließlich auch auf die Untersuchung eines nach Zollikofer hergestellten Präparates allein beschränken. Es bedeutet aber selbst die Untersuchung zweier Leukozytenzählpräparate nebeneinander noch einen ganz wesentlichen Gewinn an Zeit und auch an Genauigkeit gegenüber der erst später zu besprechenden Methode der Leukozytendifferentialzählung im Trockenpräparate.

Zählflüssigkeit.

Zählpräparate nach Zollikofer werden in folgender Weise hergestellt: Man hat zwei Stammlösungen, eine von Eosin und eine von Methylenblau, in sehr geringer Konzentration mittels wässeriger Formalinlösung hergestellt und bewahrt diese in dunklen Flaschen an einem geschützten Orte auf. Die Lösungen stellt man sich nach den folgenden Rezepten weitaus am besten selber dar:

Lösung I.

Eosin (z. B. rein französisch Dr. Grübler)	0,10
Formalini conc. (40% aq.)	2,00
Aq destillatae	200,00

Lösung II.

Methylenblau (B pat. Dr. Grübler) . .	0,10
Formalini conc.	2,00
Aq. destillatae	200,00

Gebrauchsvorschriften.

Zollikofer legt großes Gewicht darauf, die Lösungen vor dem Gebrauche zu filtrieren; dann sind ungefähr gleiche Teile der beiden Flüssigkeiten mit Hilfe von Tropfröhrchen abzumessen und unmittelbar vor der Blutentnahme in einem reinen Schälchen miteinander zu mischen. Besonderes Gewicht wird auf staubfreies Arbeiten gelegt, da jedes Stäubchen sich schon störend bemerkbar macht. Durch das Filtrieren wird den Farbstofflösungen jedesmal ein Teil ihres Gehaltes entzogen, der sich niemals sicher bestimmen läßt. Ich muß daher in Übereinstimmung mit Breuer*) empfehlen, vom Filtrieren abzusehen und nur bei der Herstellung und Aufbewahrung der Farbstofflösungen dafür zu sorgen, daß vollständig reines, filtriertes destilliertes

*) A. a. O.

Wasser verwendet werde, und daß keine Verunreinigung stattfinde. Die Farbstofflösungen werden in einem verschlossenen Kästchen aufbewahrt und unmittelbar vor der Verwendung wird mittels einer Pipette oder eines Tropfrohres aus den oberen Schichten der Flüssigkeit vorsichtig die genügende Farbstoffmenge entnommen.

Ein ganz fixes Mischungsverhältnis zwischen den Farbstoffen läßt sich nicht angeben; es spielen zuviel nicht vorausbestimmbare anscheinende Kleinigkeiten mit, und insbesondere bildet das Filtrieren der Farbstoffe, falls man an dieser Vorschrift Zollikofers festhält, eine beständige Quelle der Unsicherheit. Im allgemeinen sind etwa gleiche Teile der beiden Lösungen mit Tropfröhrchen abzumessen; das ganz genaue Verhältnis der Tropfenzahlen muß für jede frisch in Verwendung gezogene Lösung wieder bestimmt werden. Man kann auch bei Gebrauch derselben Lösungen die Tropfenzahl etwas variieren. Es handelt sich stets um ein geringes Mehr oder Weniger von Methylenblau. Ist etwas zuviel Methylenblau in der Mischung, so werden die Kerne der Zellen vorwiegend und dunkel gefärbt, hiegegen sind die neutrophilen Granula oft nur sehr mangelhaft sichtbar, und auch die Klarheit der eosinophilen Zellen leidet darunter. Dagegen sind die ungranulierten Zellen unter solchen Verhältnissen gut gekennzeichnet, wenngleich selbst einem solchen methylenblaureichen Präparate noch immer das nach meinem Vorgange mit der gefärbten Essigsäure hergestellte Zählpräparat in bezug auf Kernfärbung im allgemeinen und Kennzeichnung der einkernigen Leukozyten im besonderen weit überlegen ist. Die Kerne der Zellen erscheinen in solchen Präparaten blau mit einem violetten Stich, das Protoplasma der Lymphozyten und namentlich aber der großen mononuklearen Leukozyten ist mehr oder weniger schön hellblau, die neutrophilen Granula sind nur zum Teile erhalten und graublau, die Kerne der neutrophilen Zellen sind trotz des hohen Chromatingehaltes unklar zu sehen; einkernige und mehrkernige granulierte Zellen sind nur ganz selten mit Sicherheit voneinander zu unterscheiden, die Erkennung von Myelozyten ist also beinahe unmöglich. Die eosinophilen Granula erscheinen grob, glänzen etwas und sind in ihrem Farbenton gelbrot bis kupferfarben.

Ein solches Verhalten finde ich gewöhnlich, wenn ich vollständig gleiche Tropfenzahl der beiden unfiltrierten Lösungen

mische. Verwendet man etwas weniger Methylenblau, z. B. 22 bis 25 Tropfen der Lösung II auf 30 Tropfen der Lösung I, so erscheinen Kerne und Protoplasma der ungranulierten Leukozyten äußerst schattenhaft blaßblau, so daß man die Zellen leicht übersehen könnte; ebenso sind die Kerne der granulierten Zellen in ihrer Form ganz unklar, sehr blaß, die Granula hingegen schon der Neutrophilen sind gut erhalten und deutlich graublau gefärbt, und die eosinophilen Zellen vollends heben sich durch ihre sattere Färbung, den kupferartigen Farbenton und den leichten Glanz sehr deutlich ab. Insbesondere wenn man zur Untersuchung derartiger Präparate eine etwas stärkere Vergrößerung verwendet, z. B. Zeiß DD (dünneres Deckglas erforderlich!), so kann man eine sehr präzise Zählung aller eosinophilen und neutrophilen Zellen machen, während die Zählung und Differenzierung der ungranulierten Zellen auf Schwierigkeiten stößt, und die Mastzellen überhaupt unter allen Umständen unkenntlich bleiben.

Zollikofer verdünnt immer 1:20, empfiehlt, in der Mischpipette fünf Minuten lang zu schütteln und die gefüllte Kammer vor der Untersuchung fünf Minuten liegen zu lassen. Ich muß jedoch davor warnen, aus Zahlen von oder unter 300 Zellen, wie sie sich bei zwanzigfacher Verdünnung in der Kammer sehr häufig ergeben, absolute oder relative Werte für Zellformen, die in dem untersuchten Blute in geringer Menge vorhanden sind, zu berechnen. Ich halte hiefür eine Gesamtsumme von mindestens 500, am besten 500—1000 Zellen für erforderlich.

Überhaupt kann ich nach dem Vorausgeschickten die allgemeine Verwendung der Zollikoferschen Flüssigkeit zur Leukozytenzählung aus den gerade auseinandergesetzten Gründen durchaus nicht empfehlen. Die Bilder sind weitaus weniger scharf und rein als die mit der gefärbten Essigsäure; wo es aber darauf ankommt, die Neutrophilen und Eosinophilen nebeneinander zahlenmäßig zu bestimmen, dort kann man sich ihrer neben der Essigsäuremethode mit Vorteil bedienen. Ich würde in solchem Falle empfehlen, jenes Mischungsverhältnis der Farblösungen zu wählen, bei welchem die Kerne blaß und die Granula deutlicher gefärbt sind, ferner immer, wenn nicht eine stärkere Leukozytenvermehrung vorliegt, 1:10 zu verdünnen und sich zur Untersuchung einer stärkeren Linse (wie schon erwähnt, am besten Zeiß DD) zu bedienen. Dann ist es mit großer Sicherheit möglich, die beiden granulierten Zellformen nebeneinander zu zählen.

Wer sich in einem derartigen Falle zur Herstellung eines zweiten Zählpräparates nach der Methode von Zollikofer nicht verstehen will, muß sich, wenn er über den ungefähren Wert der Eosinophilen und Neutrophilen Aufklärung haben will, der Differentialzählung nach Ehrlich im Trockenpräparate bedienen. Ich betone aber nochmals, daß ich die Kammerzählung auch unter diesen Umständen für einfacher und jedenfalls auch für verläßlicher halte.

Fasse ich alles über die Leukozytenzählung Gesagte in wenigen Worten zusammen, so muß ich Ihnen das gründliche Studium der Leukozytenzählpräparate unter allen Umständen ans Herz legen und wärmstens empfehlen. Die in der besprochenen Weise ausgestalteten Methoden stellen eine unschätzbare Vervollkommnung und Vereinfachung der morphologischen Blutuntersuchung dar, und es ist meines Erachtens bei der immer wachsenden klinischen Bedeutung der Leukozytenbefunde als unerläßliches Gebot zu betrachten, daß sie jeder Blut untersuchende und Leukozyten zählende Arzt auch möglichst vollkommen beherrsche.

5. Vorlesung.

(Weitere physikalisch-chemische Untersuchungsmethoden.)

Ich habe nunmehr noch über eine Reihe von physikalischen und chemischen Untersuchungen des Blutes und von deren Ergebnissen zu sprechen. Die meisten dieser Untersuchungen sind für den Praktiker nicht durchführbar, und auch in der Klinik haben sie sich zum Teile wegen der Schwierigkeit ihrer Durchführung, zum Teile wegen der zu großen Blutmengen, welche ihre Ausführung erfordert, zum Teile aber auch wegen der Unsicherheit ihrer Ergebnisse und wegen der mangelnden praktischen Verwertbarkeit derselben nur wenig eingebürgert.

Ich muß trotzdem von ihnen sprechen, weil die Ergebnisse mancher als Ergänzung der auch in Praxis und Klinik leicht erhebbaren Befunde von großem Werte sind, um ein richtiges Gesamtbild von den normalen und pathologischen Zuständen des Blutes zu bekommen. Wir begutachten in unseren klinischen Untersuchungen gewöhnlich nur einen kleinen, uns eben zugänglichen Teil der Veränderungen, die sich im Blute abspielen, alle feineren, weniger sinnfälligen, deswegen für den Haushalt des Organismus aber durchaus nicht unwichtigeren Verhältnisse aber entgehen uns entweder völlig, oder wir sehen sie nur in ihrer Rückwirkung auf die unserer Beobachtung leichter zugänglichen zelligen Elemente. Wenn wir also auch diese Dinge nicht in jedem Falle zu verfolgen vermögen, so ist es meines Erachtens doch zum Verständnis der Gesamtveränderung erforderlich, die bisher vorliegenden Ergebnisse wissenschaftlicher Forschungen in ihren Hauptpunkten zu kennen und auch über die Grundsätze der Methoden, durch welche diese Resultate gewonnen wurden, unterrichtet zu sein.

Ich werde also im folgenden die wenigen hieher gehörigen Methoden, welche auch in der Klinik gut durchführbar sind, aus-

führlicher besprechen und mich im übrigen auf die Angabe des Prinzipes, der Ergebnisse und der gelegentlichen Beziehungen zu den mit den übrigen klinischen Methoden feststellbaren Veränderungen beschränken.

Blutdichte.

Die erste hieher zu zählende physikalische Untersuchungsmethode ist die Bestimmung der Blutdichte, des spezifischen Gewichtes des Blutes. Die Bestimmungen sind in sehr verschiedener Weise ausführbar. Verfügt man über große Blutmengen (Aderlaßblut, Venenpunktion), so ist die Untersuchung die denkbar einfachste. Ein gutes Aräometer vermag dann bei direkter Ablesung annähernd richtige Werte zu geben, noch verläßlicher aber wird zweifellos die Wägemethode mittels eines Pyknometers sein.

Doch ist es auch möglich, mit kleinen Blutmengen, welche sich durch einen Einstich in Fingerbeere oder Ohrläppchen gewinnen lassen, brauchbare und sogar sehr genaue Werte zu bekommen. Und zwar auf doppelte Weise: Direkt durch Wägung mittels eines Kapillarpyknometers, und auf indirektem Wege dadurch, daß man einen Tropfen Blut in eine Flüssigkeitsmischung bringt, deren spezifisches Gewicht annähernd dem des zu untersuchenden Blutes entspricht, und daß man dann durch wechselnden Zusatz der schwereren und leichteren Mischungskomponente das spezifische Gewicht der Flüssigkeit so lange verändert, bis der Bluttropfen in einer bestimmten Ebene sich in Schwebe erhält. Dann ist er gleich schwer wie die ihn umgebende Flüssigkeit, und wenn man nun das spezifische Gewicht dieser Flüssigkeit auf aräometrischem Wege bestimmt, so bestimmt man damit indirekt auch das spezifische Gewicht des untersuchten Blutes.

Kapillarpyknometer von Schmaltz.

Die kapillarpyknometrische Methode rührt von Schmaltz her. Er verwendet ein Glasrohr mit gut geglätteten Enden, das 12 cm lang und bis zu 1,5 mm dick ist; es faßt zirka 0,1 cm³. Man muß nicht gerade ein Kapillarrohr von diesen Dimensionen verwenden, zu achten ist nur darauf, daß nicht noch kleinere Blutmengen zur Untersuchung gelangen; Grawitz fordert sogar, wie ich glaube mit Recht, die doppelte Menge. Das Röhrchen wird zunächst in sorgfältig gereinigtem und getrocknetem Zustande gewogen; sodann wiegt man es gefüllt mit destilliertem Wasser und berechnet sich aus der Differenz der beiden

Werte nun das Gewicht des Wassers. Nunmehr kann man das neuerlich mittels Alkohol und Äther sorgfältigst getrocknete Röhrchen exakt mit Blut füllen, säubert außen und wägt wieder. Hiedurch erhält man das Gewicht des Glasröhrchens + Blut, und aus der Differenz dieser Zahl und des früher gefundenen Wertes für das Gewicht des Röhrchens allein ergibt sich das Gewicht des Blutes. Da für Wasser und Blut ganz genau die gleiche Menge verwendet wurde, so ist die Dichte des Blutes durch einfache Division festzustellen, indem man das Gewicht des Blutes durch das des destillierten Wassers dividiert.

Die Untersuchung erfordert ein gut eingerichtetes Laboratorium mit einer auf $^1/_{10}$ mg genau zeigenden analytischen Wage. Alle Wägungen müssen auf diesen Wert genau ausgeführt sein; auch die Temperatur ist zu berücksichtigen. Wo die erforderlichen Einrichtungen vorhanden sind, ist dieser einzigen direkten und daher zweifellos exaktesten Methode vor allen anderen der Vorzug zu geben.

Alle indirekten Methoden beruhen auf dem bereits einleitend angeführten Prinzipe der Mischung zweier Flüssigkeiten, von denen die eine wesentlich leichter, die andere wesentlich schwerer ist als Blut. Man hat im Laufe der Zeit die verschiedensten Flüssigkeiten gemischt: Glyzerin und Wasser, Benzoylchlorid und Toluol, Olivenöl und Chloroform; auch Gummilösungen der verschiedensten Konzentration mußten herhalten.

Indirekte Methode nach Hammerschlag.

Die beste und in der Klinik daher allein auszuführende Methode dieser Art aber ist die von Hammerschlag angegebene, bei welcher Chloroform und Benzol zur Bereitung der Mischung verwendet werden. Die Methode ist bequem und leicht durchzuführen, sie liefert auch bei tadelloser und genügend rascher Ausführung ganz erträglich genaue Resultate. Ich gebe sie daher ausführlicher wieder.

Das Chloroform hat ein spezifisches Gewicht von annähernd 1,5, das Benzol ein solches von beinahe 0,9; das spezifische Gewicht des Blutes beträgt unter normalen Verhältnissen etwa 1,055 bis 1,062, indem es sich beim geschlechtsreifen Weibe in der Nähe der unteren, beim Manne in der Nähe der oberen Grenze hält.

Durchführungsvorschriften.

Man bereitet sich also zunächst eine Mischung von Chloroform und Benzol, welche ungefähr der voraussichtlichen Dichte des zu untersuchenden Blutes entspricht. Man braucht dazu auf 1 Teil Chloroform $2^2/_3$—3 Teile Benzol. Ist das Blut vorausicht-

lich normal, so werde ich so lange mischen, bis das in die Mischung gebrachte, dem Apparate beigegebene Aräometer ein Gewicht von ungefähr 1,055—1,060 anzeigt. Dann gebe ich mir in je ein Tropfgläschen reines Benzol und reines Chloroform, gieße die früher bereitete Mischung in ein Becherglas und schreite jetzt zur Blutentnahme, welche in der bekannten Weise vor sich geht. Ein mittelgroßer, ohne Druck entnommener Bluttropfen wird am besten in ein ziemlich weites Kapillarrohr, das man sich selbst durch Ausziehen eines dickeren Glasrohres über dem Bunsenbrenner herstellt, aufgesogen und dann durch ein leichtes Blasen von oben oder aber, wenn das Röhrchen weit genug war, durch einfaches Lüften des die obere Öffnung verschließenden Fingers in die im Becherglase bereitstehende Mischung gebracht. Man muß unbedingt darauf achten, daß sich der Tropfen hiebei nicht zerteilt; man vermeidet das am besten dadurch, daß man die Spitze des Röhrchens unmittelbar über die Oberfläche der Flüssigkeit oder direkt in dieselbe hineinbringt, denn sonst teilt sich der Tropfen gerne, wenn er aus einer gewissen Höhe fallend an der Flüssigkeitsoberfläche aufschlägt.

Man hat nun dafür zu sorgen, daß das Flüssigkeitsgemisch während der ganzen weiteren Untersuchung in leicht rotierender Bewegung sei, was man durch wechselndes Neigen des Glases, noch besser aber durch zeitweiliges sachtes Umrühren mit einem reinen Glasstabe erreicht. Ist der Bluttropfen in die Flüssigkeit gefallen, so wird er je nach seiner Schwere sich verschieden verhalten; ist er schwerer als die Flüssigkeit, so sinkt er zu Boden, ist er leichter, so bleibt er an der Oberfläche schwimmen. Im ersteren Falle hat man durch energische Bewegung der Flüssigkeit dafür zu sorgen, daß der Tropfen sich nicht auf dem Boden des Mischgefäßes festsetze, und die Flüssigkeit sofort durch tropfenweises Zusetzen von Chloroform aus dem Tropfgläschen schwerer zu machen, damit der Tropfen sich wieder hebe. Ist die Flüssigkeit zu schwer, so muß augenblicklich Benzol aus dem Tropfgläschen zugesetzt werden, damit der Tropfen in die Flüssigkeit hineinsinke und allseits von ihr umspült werde. So geht es weiter. Ist der Tropfen irgendwo inmitten der Flüssigkeit in Schwebe, so beachtet man genau, ob er sich beim Rotieren allmählich hebt oder senkt; ist ersteres der Fall, so gibt man vorsichtig tropfenweise Benzol zu, geschieht das letztere, so wird wiederum Chloroform zugetropft, bis der Bluttropfen irgendwo in-

mitten der Flüssigkeit in einer Ebene schweben bleibt. Das ganze muß rasch geschehen, da sonst dem Tropfen Wasser entzogen und er schwerer wird. Hatte sich der Tropfen bei der Einbringung in die Flüssigkeit geteilt, so kommt es vor, daß die verschiedenen Teile in verschiedenen Ebenen schweben und sich auch in geringem Grade verschieden schwer erweisen, indem z. B. der eine horizontal schwebt, der andere sich hebt usw. Solche Bestimmungen sind unbrauchbar. — Hat man endlich das Schweben in einer Ebene erreicht, so filtriert man die Flüssigkeit (um den Bluttropfen zurückzuhalten) in einen vollkommen getrockneten Meßzylinder, setzt das beigegebene Aräometer, welches von 1,030—1,075 zeigt, ein und bestimmt dadurch das spezifische Gewicht der Flüssigkeit, welches zugleich jenes des untersuchten Blutes ist.

Nun kann man die Flüssigkeit in einem dunklen Fläschchen aufbewahren und für eine spätere Bestimmung benützen. Es ist nur geboten, in jedem Falle unmittelbar vor der zu machenden Untersuchung das spezifische Gewicht der Flüssigkeit zu prüfen und es durch Zusatz einer der beiden Mischflüssigkeiten möglichst nahe demjenigen Punkte zu bringen, welcher schätzungsweise der Dichte der zu untersuchenden Flüssigkeit entspricht. Nur dadurch wird zu langes Herumprobieren während der Untersuchung verhindert und sonach eine genügende Raschheit der Bestimmung verbürgt. Mat hat auch jederzeit dafür zu sorgen, daß alle Gefäße, mit welchen die Mischflüssigkeit in Berührung kommt, absolut trocken seien; denn das Wasser mischt sich nicht mit ihr, bildet also auch Tropfen, und macht jedes korrekte Arbeiten unmöglich. Sollte eine solche Verunreinigung vorgekommen sein, so muß man gegebenenfalls auch mehrmals filtrieren.

Wie ersichtlich, ist die Methode im höchsten Grade einfach und auch dadurch leicht ausführbar, daß man keinen eigentlichen Apparat dazu braucht. Ein Becherglas, ein Meßzylinder, zwei Tropfgläschen und eine dunkle Flasche sind ebenso wie die zu mischenden Flüssigkeiten überall zu haben; das einzige, was diese Untersuchung speziell erfordert, ist das Aräometer, von dessen genauer Eichung die Brauchbarkeit des ganzen Verfahrens abhängt.

Die praktische Brauchbarkeit der Methode wird dadurch erhöht, daß man nicht nur die Dichte des Blutes, sondern auch die des Blutplasmas oder Blutserums bestimmen kann, sowie jene

anderer Körperflüssigkeiten, welche in so geringer Menge zur Verfügung stehen, daß eine direkte Dichtenbestimmung auf pyknometrischem oder aräometrischem Wege unmöglich ist, z. B. die Dichte von Probepunktaten der Pleura oder des Peritoneums oder der spinalen Meningen. Man wird nur vorher dafür zu sorgen haben, daß die Dichte der ganzen Mischung der voraussichtlichen Dichte der zu untersuchenden Flüssigkeit möglichst nahe kommt.

Will man also ein Brust- oder Bauchfellpunktat untersuchen, so wird man das Gewicht der Mischung durch größeren Benzolzusatz auf 1,010—1,015 zu erniedrigen haben; will man eine Spinalpunktionsflüssigkeit untersuchen, so wird man die Flüssigkeit noch etwas leichter machen, 1,006—1,008.

Pathologische Schwankungen der Blutdichte.

In gleicher Weise wird man auch bei der Bestimmung der Dichte des Blutes in jenen Fällen vorgehen, wo sie voraussichtlich pathologisch herabgesetzt oder erhöht ist, und ebenso bei der Bestimmung der Dichte des Blutplasmas und Blutserums. Erhöhungen der Blutdichte kommen vor bei Bluteindickung bis zu Werten von 1,080 und etwas darüber, Erniedrigungen bei den verschiedensten Formen der Anämien, insbesondere bei denen, wo sowohl der Hämoglobingehalt als die Zahl der Erythrozyten in hohem Grade vermindert sind. Hier kommen in sehr schweren Fällen Werte vor, die selbst noch unter die bereits mehrfach beobachtete Zahl von 1,030 herabgehen können.

Dichte des Blutplasmas und des Blutserums.

Blutplasma zur Dichtenbestimmung gewinnt man in der Weise, daß man entweder das in ein weiteres Kapillarrohr aufgesogene Blut außerordentlich rasch, noch vor Eintritt der Gerinnung, zentrifugiert oder dadurch, daß man das zur Blutaufnahme bestimmte Glasröhrchen zunächst mit einer 3%igen Kalkoxalatlösung füllt, dann ausbläst und jetzt Blut eintreten läßt. Durch die geringen zurückgebliebenen Kalkoxalatspuren wird die Gerinnung des Blutes jetzt gehindert, und man kann nun das unten durch ein Wachskügelchen oder Siegellack oder durch Zuschmelzen verschlossene Röhrchen einfach einige Stunden in der Kälte sich selbst überlassen. Die Blutkörperchen senken sich zu Boden; mittels eines leichten Feilenstriches gelingt es dann, das Röhrchen oberhalb der Blutsäule abzubrechen, und nun kann man das Plasma aus der oberen Hälfte des Röhrchens direkt in die Chloroform-Benzolmischung bringen.

In ähnlicher Weise gewinnt man Blutserum. Man überläßt das in die Kapillare ohne Oxalatzusatz aufgesogene Blut

der Gerinnung und spontanen Sedimentierung. Das spezifische Gewicht des normalen Blutplasmas beträgt etwa 1,030, des Serums um eine Spur weniger, so daß man für beide unter normalen Verhältnissen Werte zwischen 1,026 und 1,030 zu erwarten hat. Unter schwer pathologischen Verhältnissen sinken die Werte auch bis zu 1,017 und 1,020 herab.

Für die praktische Blutuntersuchung hat die Blutdichtenbestimmung keine große Bedeutung, mag sie auch in theoretischer Hinsicht sehr schätzenswerte Ergebnisse liefern. Hammerschlag hat eine weitgehende Kongruenz zwischen Blutdichte und Hämoglobingehalt gefunden, und man meinte, die Dichtenbestimmung geradezu als Ersatz für die Hämoglobinbestimmung verwenden zu können. Dem ist jedoch nicht so, da die Dichte im wesentlichen vom Trockenrückstande des Blutes abhängt, und dieser letztere wieder zwar hauptsächlich, aber nicht durchaus dem Hämoglobingehalte parallel geht. Eine von Hammerschlag entworfene Vergleichstabelle weist für Dichtenschwankungen von drei bis vier Aräometergraden Hämoglobinschwankungen von 10% der Fleischlschen Skala auf, derart, daß einer Dichte von 1,034—1,037 ein Hämoglobingehalt von 20—30% und einer Dichte von 1,059—1,062 ein Hämoglobingehalt von 90—100% nach Fleischl entsprechen soll. Ich führe Ihnen die mittleren Zahlen nicht weiter an, da ich Sie lebhaft davor warnen muß, auf diesem Wege eine Hämoglobinbestimmung zu umgehen; es sind schon die direkt bestimmten Hämoglobinwerte ungenau, mehr als genug.

Jolles' Ferrometer.

Auf eine andere, aber ebenfalls unzulässige Weise versuchte Jolles den Hämoglobingehalt des Blutes indirekt zu bestimmen, indem er Eisenbestimmungen in der Blutasche ausführte. Er hat auch ein Ferrometer genanntes Instrument hergestellt, welches für solche Eisenbestimmungen aus kleinsten Blutmengen (50 mm³) Verwendung finden und vollkommen „analytisch exakte Resultate" liefern soll. Das Prinzip der Methode besteht in folgendem: Die Blutasche wird mit einer bestimmten Menge (0,1 g) saurem schwefelsaurem Kali zusammengeschmolzen, die Schmelze in heißem Wasser gelöst und die Lösung in einem kalibrierten Zylinder und unter Auffüllung auf 15 cm³ mit 1 cm³ verdünnter Salzsäure (1:3) und 4 cm³ Rhodanammoniumlösung (7,5:1000) versetzt. Der Eisengehalt wird dann kolorimetrisch bestimmt, wobei

1 cm³ einer Vergleichsflüssigkeit verwendet wird, welche in dieser Raumeinheit $^1/_{20}$ mg Eisen und 0,1 g saures schwefelsaures Kali enthält. Unter Zusatz von Salzsäure und Rhodanammonium (wie oben) wird auch die Vergleichsflüssigkeit in einem gleichweiten kalibrierten Zylinder auf 15 cm³ gebracht, ein Schwimmer aufgesetzt, und nun wird die Färbung beider Zylinder in einem eigenen Kolorimeter verglichen. Man läßt so lange Vergleichsflüssigkeit durch einen in der Nähe des Bodens des zugehörigen Zylinders befindlichen Hahn in einen zweiten Meßzylinder abfließen, bis in beiden Röhrchen vollständige Farbengleichheit besteht. Aus der zur Erzielung der Farbengleichheit erforderlichen Menge der Vergleichsflüssigkeit kann man dann mittels einer beigegebenen Tabelle direkt den Eisengehalt per Liter Blut berechnen.

Das Verfahren ist aus zwei Gründen weder für wissenschaftliche Untersuchungen, noch für die Praxis zu brauchen. Erstens enthält das Blut außer im Hämoglobin noch in Zellen und Plasma zwar kleine, aber doch in Betracht kommende Mengen von Eisen, welche Werte schwanken, und überdies scheint auch der Eisengehalt des Hämoglobins nicht unter allen Umständen ganz gleich zu sein. Man kann also die Bluteisenbestimmung, vorausgesetzt selbst, daß sie exakt sei, nicht als Ersatz für die Hämoglobinbestimmung brauchen. Das hat auch Jolles selbst bereits zugegeben. Zweitens wird die Methode als Eisenbestimmung von Seite der berufenen Kritiker, nämlich der Chemiker vom Fach, schon wegen der viel zu geringen Blutmenge und dann auch aus methodologischen Gründen für unzulässig erklärt. Für wissenschaftliche Untersuchungen werden also ihre Ergebnisse zu wenig genau sein, der praktische Hämatolog aber hat nicht das mindeste Bedürfnis, das Bluteisen neben dem Hämoglobin mit Hilfe einer unverläßlichen Methode zu bestimmen.

Wir haben mit dieser Erörterung dem Ferrometer bereits mehr als gut Beachtung geschenkt; ich erwähne nur gleich jetzt im Anschluß hieran, daß die gleichfalls von Jolles zur Phosphor- und Stickstoffbestimmung angegebenen Phospho- und Azotometer kein anderes Schicksal verdienen. Ich werde ihrer nicht mehr Erwähnung tun.

Auch die Zählung der roten Blutkörperchen hat man durch schneller durchführbare und einfachere Verfahren zu ersetzen

Olivers Hämozytometer.

versucht. Erst in neuester Zeit ist ein solches Verfahren von Oliver angegeben worden, welches auf der Verwendung eines „Hämozytometer" genannten Instrumentes beruht. 10 mm³ Blut werden in einer der Kapillarpipette von Fleischl gleichgestalteten Kapillare abgemessen und mittels eines Tropfröhrchens, das vorher mit Hayemscher Flüssigkeit (siehe oben S. 61) gefüllt wurde, sorgfältig in ein hohes graduiertes Glasgefäß mit ebenen Wänden und rechteckigem Querschnitt von 15 : 5 mm gespült. Dieses Gefäß wird dann in einem dunklen Raume, eingeklemmt zwischen den Daumen und die ausgestreckten übrigen Finger der linken Hand, zwischen das Auge und die kleine Flamme eines Wachskerzchens gebracht, derart, daß es mit dem größeren Durchmesser quer und unmittelbar vor dem Auge sich befindet, während die Kerze etwa 3 m entfernt so hinter dem Glasgefäße steht, daß das Auge von keinen anderen als von jenen Strahlen, welche durch das Glasgefäß gehen, getroffen werden kann.

Bei einer gewissen Verdünnung des Blutes mit Hayemscher Flüssigkeit erscheint zunächst an den Rändern des Gefäßes und bald danach bei tropfenweisem weiterem Zusatze der Verdünnungsflüssigkeit in der ganzen Breite des Gefäßes ein horizontaler Lichtstreifen, welcher aus kleinsten nebeneinander stehenden Bildern der hinter der Röhre befindlichen Flamme entstanden ist. Sowie dieser Lichtstreifen in der ganzen Breite des Rohres sichtbar geworden ist, hört man mit der Verdünnung auf und liest den der Oberfläche der Mischung entsprechenden Teilstrich an der bis 140 reichenden Skala des Gefäßes ab. Diese ist auf empirischem Wege so hergestellt, daß ein gerade 5,000.000 Erythrozyten zählendes Blut bis zum Skalenteil 100 verdünnt werden muß, um den horizontalen Lichtstreifen entstehen zu lassen. Jeder Teilstrich nach oben oder unten bedeutet 50.000 Erythrozyten mehr oder weniger. Der Teilstrich 120 entspricht also z. B. 6,000.000, der Teilstrich 30 aber 1,500.000 Erythrozyten.

Cabot rühmt den Apparat, da ein unter ihm arbeitender amerikanischer Beobachter ganz unglaublich genaue Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen desselben und der vergleichenden Erythrozytenzählung mittels des Thoma-Zeißschen Apparates gefunden hat. Eine weitere Verbreitung, wenigstens in unseren Landen, hat sich aber der Apparat nicht verschaffen können. Ich verfüge über keine eigenen Erfahrungen damit und enthalte mich daher lieber jeder Kritik.

Volumen der Erythrozyten im Blute.

Ein anderes Verfahren, das man gleichfalls an Stelle der Erythrozytenzählung zu setzen versuchte, besteht in der *Fest-*

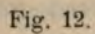
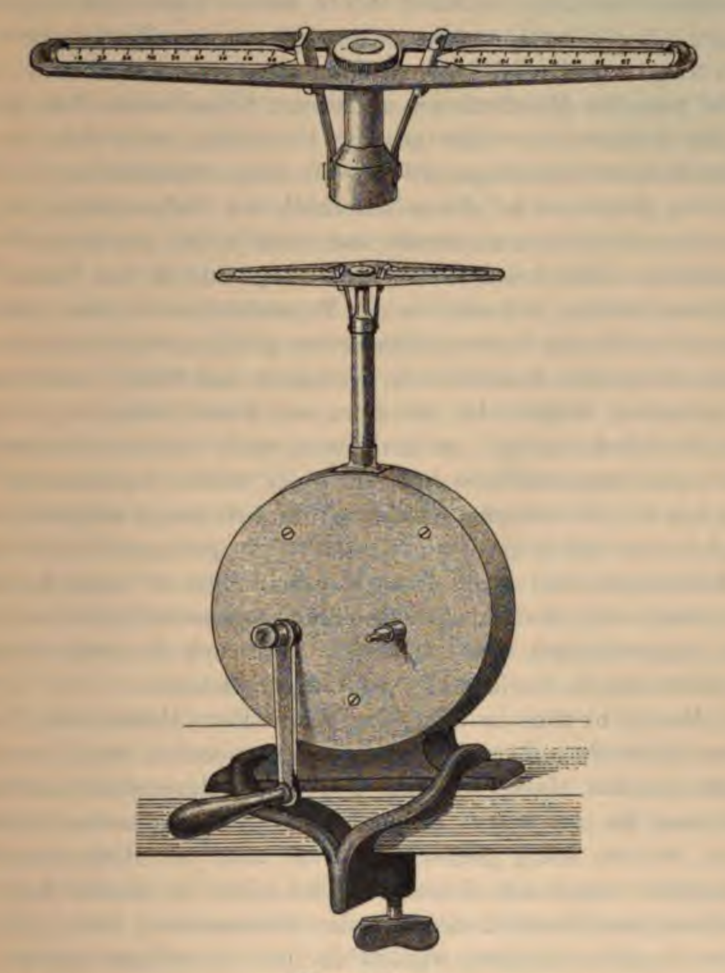


Fig. 12.



Hämatokrit.

stellung des Volumens der Blutkörperchen in der Raumeinheit des Gesamtblutes.

Für diese Bestimmung wurde zunächst der *Hämatokrit* von *Hedin* in Verwendung gezogen, eine für diesen Zweck Hämatokrit.

besonders ausgestaltete Zentrifuge. Er hat verschiedene Formverwandlungen durchgemacht. Die ältesten und neuesten Apparate gleichen einander im Prinzip, zwischen ihnen steht die von Gärtner für seine Kreiselzentrifuge eingerichtete Modifikation. Ein moderner Apparat hat etwa folgendes Aussehen: Auf eine Handzentrifuge mit vertikaler Achse ist an Stelle des wagearmartigen Querbalkens, welcher sonst die beiden Zentrifugierröhrchen trägt, ein ebenfalls wagebalkenartiger, durchbrochener, horizontal gestellter Metallrahmen aufgesetzt. Seine beiden Pole tragen an der Innenseite je eine grubige Vertiefung, in welche je ein Kautschukplättchen eingepreßt ist. An dem zylindrischen Achsenteile des Rahmens ist etwas unterhalb der Rahmenhöhe beiderseits eine nach oben strebende und nach außen drückende Feder angebracht. Ihre freien Enden reichen gerade in das Innere des Rahmens hinein, und sind in der Rahmenhöhe an ihrer äußeren Seite ebenfalls mit kautschukarmierten grubigen Vertiefungen versehen. Zwischen Rahmenende einerseits und Feder andererseits ist in beiden Hälften des Rahmens ein freier Raum, in welchen nun zwei dickwandige, an der einen, nach innen zu kehrenden Seite spitz zugeschliffene und mit einer außen beginnenden Teilung von 0—100 versehene Kapillarröhrchen derart eingefügt werden können, daß ihre offenen Enden in die grubigen Vertiefungen an Balkenende und Feder jeder Rahmenhälfte zu liegen kommen und durch die dortselbst befindlichen Kautschukplättchen luftdicht abgeschlossen werden. Durch den Druck der Feder werden die Röhrchen in horizontaler Lage festgeklemmt.

Man geht nun in folgender Weise vor: Mittels des Zeißschen Schüttelmischers für weiße Blutkörperchen saugt man zunächst bis zur Marke 0,5 eine $2^1/_2$%ige Kaliumbichromatlösung und dann bis zur Marke 1 Blut auf. Die abgemessenen Flüssigkeiten werden innig gemischt, worauf man mit Hilfe eines mit Mundstück versehenen Kautschukschlauches die beiden Kapillarröhrchen des Hämatokriten mit der Blutmischung füllt. Die gefüllten Kapillarröhrchen werden in den Zentrifugierrahmen geklemmt, der dann der Zentrifuge aufgesetzt und sofort in rasche Bewegung versetzt wird. Nach etwa 60—70 Sekunden raschen Zentrifugierens ist die Blutkörperchensäule, die sich an der Peripherie gebildet hat, weil die Erythrozyten die schwersten Elemente des Blutes darstellen, auf ein konstantes Volumen gebracht. Auf ihrer nach innen zu gekehrten Oberfläche liegt die ganz

schmale, hellgraue Zone der Leukozyten und dann folgt klares, durch die Bichromatlösung gelb gefärbtes Serum. Man liest den Teilstrich ab, bis zu welchem die Erythrozytensäule reicht und multipliziert die so gefundene Zahl mit 2. Man hat dann direkt den Wert für die Volumsprozente der Erythrozyten; mit 2 muß man multiplizieren, da man ja das Blut mit der gleichen Menge der Kaliumbichromatlösung verdünnt hat.

Die ursprüngliche Anordnung von Hedin war ganz ähnlich, doch reichte die Teilung der Kapillare nur bis 50, man mußte also die gefundene Zahl mit vier multiplizieren, und außerdem wurde zur Blutverdünnung Müllersche Flüssigkeit verwendet, die erst später Daland durch die Bichromatlösung ersetzte. Bei Gärtners Modifikation verdünnt man eine abgemessene Blutmenge in willkürlichem Grade mit Bichromatlösung direkt in der mit einem Trichterchen versehenen Zentrifugierkapillare. Von dieser ist nur jener Teil von 0—100 graduiert, welcher der abgemessenen Blutmenge entspricht. Die Kreiselzentrifuge muß ungefähr sechs Minuten laufen, bis ein konstantes Volumen der Blutkörperchensäule erreicht wird. Dann liest man den Skalenteil am oberen Ende der Säule ab und bestimmt hiedurch direkt ohne jede Multiplikation die Volumsprozente der Erythrozyten.

Die Werte, welche mit dieser Methode erhalten werden, sind ganz gewiß nicht absolut genau, sondern nur untereinander vergleichbar; sie schwanken übrigens nach den Angaben verschiedener Autoren, welche sich dieser Methode bedienten, in ganz ungeheurem Maße, bei Daland z. B. für den Mann zwischen 44 und 66%, für das Weib zwischen 36 und 49%. Wir werden wohl nicht fehlgehen, wenn wir als Mittel der sämtlichen vorliegenden Untersuchungen bei Anwendung dieser Methode einen Wert von 40—50% als Volumen der Erythrozyten im normalen Blute annehmen.

Verläßlichere Werte könnte man wohl vom Zentrifugierverfahren nur dann erwarten, wenn zur Blutverdünnung jedesmal eine genau isotonische Salzlösung verwendet würde, wie das schon Köppe getan hat. Er erhielt auch konstantere Werte von meist etwa 52—55%.

Ein direktes Zentrifugierverfahren ohne Verdünnung verwendet E. Grawitz dann, wenn er größere Mengen Blut zur Verfügung hat (Venenpunktion). Er zentrifugiert sofort vor Eintritt der Gerinnung und liest den Wert nach einer halben Stunde

unmittelbar an der Skaleneinteilung des Röhrchens ab. Auch er findet als Mittelwert 45—50 Volumsprozente.

Sedimentierung.

An Stelle des Zentrifugierverfahrens wurde von Biernacki und Grawitz das Verfahren der spontanen Sedimentierung eingeführt, wozu ersterer einige Kubikzentimeter durch Venenpunktion gewonnenen Blutes verwendet, während der letztere mit kleinsten Blutmengen arbeitet. In beiden Fällen wird zur Vermeidung der Gerinnung Natriumoxalat in Pulverform verwendet, welches Biernacki zunächst vor der Bluteinfüllung in einer Menge von 2 mg auf 1 cm³ Blut in das Röhrchen bringt. Dann werden die Röhrchen in voller Ruhe 24—48 Stunden sich selbst überlassen. In dieser Zeit haben sich die Blutkörperchen bis zu konstantem Volumen zu Boden gesenkt, und man mißt nun die Höhe der Erythrozytensäule im Vergleiche zur Höhe der gesamten Blutsäule ab und stellt hiedurch das Erythrozytenvolumen in Prozenten fest. Auch mit dieser Methode sind bloß Vergleichswerte, aber keine absolut richtigen Zahlen zu erhalten.

Methode Bleibtreu.

Noch schlechter bestellt ist es mit der scheinbar besonders exakten Methode der Gebrüder Bleibtreu, welche auf einem chemischen Prinzipe beruht. Mehrere Blutproben werden in einer wechselnden, aber bekannten Abstufung mit 0,6% Kochsalzlösung versetzt. Die nach dem Absetzen oben stehende wasserklare Flüssigkeit wird abgehoben und der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl unterworfen. Aus dem Verhältnisse der bei verschiedenen Verdünnungen mit Kochsalzlösung erhaltenen Stickstoffwerte berechnen die Brüder Bleibtreu nach einer von ihnen aufgestellten Formel das Blutkörperchenvolumen. Sie kommen zu wesentlich niedrigeren Werten als die bisher erwähnten Beobachter; ihre Zahlen schwanken bei normalem Blute zwischen 25 und 49 Volumsprozenten, während Pfeiffer mit gleicher Methode Werte von 34,5—55,8, im Mittel 44,2% bekam. Limbeck, der stets isotonische Kochsalzlösungen zur Verdünnung verwendete, erhielt endlich mit derselben Methode nur Werte von 24,5—28,6%. Der Hauptfehler dieser Methode ist darin zu suchen, daß bei Verdünnung des Blutes mit Salzlösungen in einem von der Konzentration dieser letzteren abhängigen wechselnden Grade Stickstoff aus den Blutkörperchen in das Serum übertritt.

Sie sehen aus all dem eben Mitgeteilten, daß die mittels aller in Verwendung gekommenen Methoden gewonnenen Werte

für das Volumen der Erythrozyten schon im normalen Blute ganz außerordentlich großen Schwankungen unterworfen sind, die zu einem großen Teile gewiß in den sehr bedeutenden Fehlerquellen und in den prinzipiellen Mängeln aller dieser Methoden, auf die ich gar nicht eingehe, begründet sind. Es wäre demnach wohl Frevelmut, eine doch wesentlich genauere Methode, wie sie die Zählung der Erythrozyten darstellt, durch irgend eines dieser unsicheren Verfahren ersetzen zu wollen. Und zwar schon bei normalem Blute. Wieviel weniger ist etwas derartiges erst möglich bei krankhaften Veränderungen des Blutes, wo sich der Durchmesser und Rauminhalt der Zellen in einer ganz unbestimmbaren Weise verändert! Bedenken Sie doch nur, welche ungeheuren und zahlreichen Größenunterschiede bei perniziöser Anämie vorkommen, welcher riesige Unterschied in der Durchschnittsgröße der Zellen zwischen einer Chlorose und einer perniziösen Anämie besteht, und Sie werden ohneweiters zugeben müssen, daß selbst bei Vorhandensein einer genauen Methode das Volumen der Erythrozyten nicht ein objektives Maß für deren Zahl abgeben kann. Alle derartigen Versuche sind daher als irreführend ohneweiters von der Hand zu weisen, und die oben erwähnten Methoden sind nur insofern zu brauchen, als sie uns eben für das Volumen nicht aber für die Zahl der Erythrozyten in der Blutmengeneinheit relative Vergleichswerte liefern. Man könnte im besten Falle daran denken, dadurch, daß man das Ergebnis der Erythrozytenzählung und das der Volumsbestimmung miteinander vergleicht, einen Schluß auf die durchschnittliche Größe der Erythrozyten zu ziehen, also aus diesen beiden Werten mit Zuhilfenahme der beiden „Normalzahlen“ einen „Größenkoeffizienten“ zu berechnen. Das scheint mir aber, abgesehen davon, daß dieser Koeffizient bei den großen Schwankungen der angeblichen Normalwerte unmöglich auch nur einigermaßen genau ausfallen könnte, nicht von wesentlichem Belange zu sein, und ich halte es für klüger, auch davon gänzlich abzusehen.

Man hat es sogar versucht, den Leukozyten mit dem Hämatokriten beizukommen. Normalerweise bilden die Leukozyten, da sie spezifisch leichter sind als die roten Blutkörperchen, an deren Oberfläche eine schmale, graue Schichte. Bei Vermehrung der Leukozyten wird diese naturgemäß merklich breiter, bei Leukämien recht breit ausfallen müssen. Es unterliegt ja danach keinem Zweifel, daß man bei einiger Erfahrung aus diesem Befunde wird

sagen können, es werde in einem bestimmten Falle keine besondere Veränderung, in einem anderen eine mehr minder hochgradige Leukozytose vorliegen, und daß man bei ganz besonders exzessiver Höhe der Leukozytensäule den Gedanken an das Bestehen einer Leukämie wird fassen dürfen. Weiter kann man nicht gehen — und um zu diesem Schlusse zu kommen, braucht man doch um Gottes willen keinen Hämatokriten!

Trockenrückstand des Blutes.

Wesentlich exaktere und aus diesem Grunde auch unvergleichlich wertvollere Blutuntersuchungsmethoden sind die, welche sich auf die Bestimmung des Wassergehaltes und Trockenrückstandes beziehen. Der eifrigste Vertreter dieser Methode ist Biernacki geworden, welcher am liebsten sagen möchte: Blutuntersuchung = Trockenrückstandsbestimmung; von allen übrigen Untersuchungsmethoden findet kaum mehr die Zählung der Erythrozyten einigermaßen Gnade. Zu solchen Schlüssen kann allerdings nur eine ganz einseitige Anschauungsweise führen. Anerkannt aber muß es werden, daß die Trockenrückstandsbestimmung eine wertvolle Ergänzung unserer üblichen Untersuchungsmethoden, speziell bei Anämien, darstellt, und mit Fug und Recht mehr gepflegt zu werden verdiente, als dies in Wirklichkeit geschieht, um so mehr, als sie gewiß zu den exaktesten Blutuntersuchungen zu zählen ist.

Man braucht für eine derartige Untersuchung eine auf $^1/_{10}$ mg genau zeigende analytische Wage und einen Schwefelsäureexsikkator. Der Vorgang ist folgender: Aus einem tiefen Einstich in Ohrläppchen oder Fingerbeere werden $^1/_2$—1 cm^3 in freier Tropfenfolge hervorquellenden Blutes in ein vorher sorgfältig gewogenes Wiegeschälchen gebracht und nun sofort nach Aufsetzen eines luftdicht schließenden Deckels in feuchtem Zustande gewogen. Sodann bringt man das wieder geöffnete Schälchen in den Schwefelsäureexsikkator und läßt es so lange darinnen, bis das Blut vollständig zu einer harten, spröden, glasigen Masse eingetrocknet ist, was im allgemeinen nicht viel länger als 24 Stunden erfordert. Sodann wird in trockenem Zustande (nach Aufsetzen des Deckels) neuerlich rasch gewogen und aus der Differenz zwischen dem Gewichte des feuchten und des vollkommen ausgetrockneten Blutes der Wasserverlust berechnet. Wenn man das

Verfahren beschleunigen will, kann man nach Stintzing und Gumprecht auch bei 67° im Brutschrank trocknen, nach Biernacki sogar bei 100—120°, was dann nur $1^1/_2$—2 Stunden dauert und nur mehr eine höchstens halbstündige Nachbehandlung (Abkühlung) im Exsikkator erfordert. Doch sind die bei Trocknung in erhöhter Temperatur erhaltenen Werte nicht mehr so vollkommen sicher verläßlich wie die bei der Exsikkatortrocknung erhaltenen.

Noch genauer sind naturgemäß die Werte, wenn man mehrere Kubikzentimeter Blut durch Venenpunktion entnimmt und für die Untersuchung verwendet. Zu achten hat man bei der ganzen Methode darauf, daß die Stelle der Blutentnahme absolut trocken sei, daß das Wiegeschälchen nicht mit der Hand, sondern nur mit einer Zange berührt werde, daß während der Wägung der Deckel luftdicht (Newtonsche Farbenringe) schließe, und daß die Luft in dem Wagekasten und eventuell im Brutschrank vollkommen trocken sei, was durch Einbringung von Chlorkalzium erstrebt wird. Doppeluntersuchungen sind zur Kontrolle zu empfehlen.

Die Methode gewinnt dadurch noch an Bedeutung, daß der normale Wassergehalt und dementsprechend der normale Trockenrückstand des Blutes sehr konstante Werte sind, die nur innerhalb verhältnismäßig sehr enger Grenzen schwanken. Biernacki, der über große eigene Erfahrungen verfügt und strenge Kritik zu üben gewohnt ist, stellt als Normalwert für den Trockenrückstand des Blutes beim erwachsenen Menschen 21,0—22,5% auf, wobei Männer und Weiber eingeschlossen sind. Im Gegensatze zu früheren Beobachtungen hat er einen konstanten und wesentlichen Unterschied zwischen beiden Geschlechtern nicht feststellen können. Man darf sonach in jedem Falle, in welchem der Trockenrückstand des Blutes weniger als 20%, sein Wassergehalt also mehr als 80% beträgt, von pathologischer Hydrämie, beziehungsweise von Anämie sprechen.

Man kann mit derselben Methode auch den Trockenrückstand des Blutserums bestimmen. Er beträgt unter normalen Verhältnissen 10—10,5%. Viel weniger verläßlich sind die Angaben über den Trockensubstanzwert der Blutkörperchen, da in der durch Zentrifugieren oder durch Absetzenlassen erhaltenen Blutkörperchensäule immer Plasma, und zwar in sehr wechselnder Menge

mit eingeschlossen ist. Biernacki gibt für gesunde Männer Werte von 28—30% an.

Unter pathologischen Verhältnissen wechselt naturgemäß mit der chemischen Konstitution der zelligen Elemente und des Plasmas auch der Gehalt des Blutes an Trockensubstanz in ganz außerordentlichem Maße. Bei Bluteindickung (profuse Schweiße, Diarrhöen, Cholera) wird eine Steigerung infolge Verminderung des Plasmas zu erwarten sein, bei den verschiedensten Formen von Hydrämie und Anämie hingegen eine sehr verschiedengradige Herabsetzung des Trockenrückstandswertes, je nachdem, ob nur der Eiweiß- und Salzgehalt von Zellen und Plasma oder ob auch die Zahl der ersteren in wesentlichem Grade herabgesetzt ist. Zu bemerken wäre dabei nur, daß der Trockenrückstandsgehalt des Serums geringeren Schwankungen unterworfen zu sein scheint als jener der zelligen Elemente.

Osmotische Verhältnisse des Blutes.

Mit der Skizzierung einer nächsten belangreichen Untersuchungsmethode muß ich Sie für einige Minuten in das Gebiet der physikalischen Chemie hinüberleiten. Es handelt sich um die Bestimmung der Widerstandskraft der roten Blutzellen und die osmotischen Verhältnisse des Blutes.

Im normalen Blutplasma bleiben die roten Blutkörperchen vollkommen unverändert; sie behalten ihre Größe und Form dauernd bei, und insbesondere geben sie nichts von ihrem Farbstoff ab. Diese Verhältnisse ändern sich sehr bald, wenn die Konzentration des Plasmas geändert wird; bei Wasserverdunstung, also Konzentrationserhöhung des Plasmas, schrumpfen die Erythrozyten, bei Wasserzufuhr quellen sie und geben, sobald die Konzentration unter einen gewissen Grad herabgegangen ist, ihren Blutfarbstoff ab, das Blut wird „lackig“. Ganz analog wie gegenüber dem Plasma verhalten sich die Erythrozyten gegenüber einfachen Salzlösungen verschiedener Konzentration. Bei einem ganz bestimmten Salzgehalte der Umgebung bleiben sie vollkommen unverändert. Geht der Salzgehalt unter diese Grenze herab, so quellen sie zunächst und geben dann bei noch weiter herabgehender Verdünnung endlich ihr Hämoglobin ab und werden gelöst; übersteigt der Salzgehalt wesentlich jene Grenze, so schrumpfen sie. Von reinem Wasser werden sie sofort gelöst.

Diese Verhältnisse sind der Ausdruck der zwischen roten Blutkörperchen und umgebender Flüssigkeit sich abspielenden osmotischen Vorgänge; sie unterliegen demnach im wesentlichen den Gesetzen der Diffusion, wie verdünnte Salzlösungen überhaupt. Das ergibt sich schon aus dem vorher Gesagten: Ist die umgebende Flüssigkeit zu sehr konzentriert, hat sie also einen wesentlich höheren osmotischen Druck als die Zellen selbst, so entzieht sie ihnen Wasser, die Zellen schrumpfen; ist sie zu wenig konzentriert, ist also ihr osmotischer Druck merklich geringer als derjenige der Zellen, so tritt Zellinhalt, vor allem Hämoglobin, auf dem Wege der Diffusion oder schließlich der Zellsprengung in die Flüssigkeit über; nur wenn die molekulare Konzentration, also der osmotische Druck von Zellen und umgebender Flüssigkeit der gleiche ist, bleiben beide unverändert. Salzlösungen, welche dieselbe Wasser anziehende Kraft besitzen wie das Intrazellularplasma, in welchen also die Erythrozyten völlig unverändert bleiben, werden von Hamburger als isotonische Salzlösungen bezeichnet. Minder konzentrierte Salzlösungen nennt man dann hyp(is)otonisch, stärker gesättigte hyper(iso)tonisch.

Isotonie nach Hamburger.

Der Salzgehalt der den Erythrozyten isotonischen Lösungen verschiedener Salze ist natürlich verschieden, da der osmotische Druck von der molekularen Konzentration abhängt; ebenso ist der osmotische Druck der roten Blutkörper verschiedener Tierarten verschieden; man kann also nur von Isotonie einer bestimmten Salzlösung gegenüber den Erythrozyten einer bestimmten Tierspezies sprechen. Andererseits sind naturgemäß die verschieden konzentrierten Lösungen verschiedener Salze, welche alle gegenüber den Erythrozyten einer bestimmten Tierart isotonisch sind, auch untereinander isotonisch, sie haben also dieselbe molekulare Konzentration, dieselbe osmotische Spannung. Salzgemische sind dann dem Blute isotonisch, wenn die Summe der osmotischen Partialdrücke ihrer einzelnen Bestandteile gleich ist dem osmotischen Drucke der Erythrozyten. Zu bemerken wäre hier noch, daß sauerstoffreiches und sauerstoffarmes Blut nach Hamburger und v. Limbeck einen etwas verschiedenen Grad molekularer Konzentration besitzen; allerdings ist die Differenz zwischen arteriellem und venösem Blute äußerst gering, viel größer aber zwischen einer arteriellen und einer mit Kohlensäure geschüttelten Blutprobe. Während der Unterschied im ersteren Falle selten mehr als 0,01% Na Cl be-

9*

trägt, steigt er im letzteren Falle bis auf das Zehnfache dieses Wertes empor.

Es ist naheliegend, daß im Organismus das Blutplasma einen wesentlich höheren Grad von molekularer Konzentration aufweisen muß als jenen, welcher gerade noch imstande ist, den Austritt von Blutfarbstoff zu verhindern; die geringste Störung in der Wasserökonomie müßte im letzteren Falle ein solches Vorkommnis bereits im Gefolge haben.

Bestimmung der Widerstandskraft der Erythrozyten

Für die Beurteilung der Widerstandsfähigkeit der Erythrozyten ist aber gerade die Kenntnis dieses Wertes ein ganz vorzüglicher Maßstab, und es bauen sich auch die Methoden zur Bestimmung der Resistenz der Blutkörperchen auf der Ermittlung dieses Grenzwertes molekularer Konzentration auf.

a) nach Hamburger,

Von den Methoden zur Bestimmung der Resistenz der roten Blutkörperchen ist vor allem das Verfahren von Hamburger anzuführen. Er stellt sich eine ganze Reihe von Eprouvetten auf, welche mit Kochsalzlösungen verschiedener, aber genau bekannter Konzentrationen derart beschickt sind, daß jede Eprouvette eine um 0,02% gesättigtere Salzlösung enthält als die vorhergehende. In jedes Röhrchen wird dann $^1/_2$ cm³ defibrinierten Blutes gebracht und geschüttelt, worauf man durch 12 bis 24 Stunden stehen läßt, um nachher zu beobachten, welches Röhrchen bereits den geringsten Grad von Rotfärbung der Salzlösung aufweist. Die nächst höhere Konzentration gibt dann den Grenzwert der die Auflösung eben noch verhindernden molekularen Konzentration an und liefert damit ein Maß für die Widerstandskraft der Erythrozyten.

Auf dieselbe Weise kann man daneben auch die wirkliche osmotische Spannung des Blutserums bestimmen. In einigen Eprouvetten werden etwa 5 cm³ Blutserum mit Erythrozyten beschickt, und nun setzt man zu den einzelnen Mischungen destilliertes Wasser in steigender Menge zu. Dasjenige Röhrchen, in welchem die Auflösung der Erythrozyten eben noch nicht erfolgt ist, wird zur Berechnung der osmotischen Spannung des Serums verwendet. Diese Berechnung ist mit Hilfe einer einfachen Gleichung durchführbar, wenn man vorher den Wert für die Resistenz der untersuchten Erythrozyten bestimmt hat. Dieser sei z. B. 0,46% NaCl gewesen; und zu den 5 cm³ Blutserum hätte ich 5 cm³ destilliertes Wasser zusetzen müssen, bis gerade noch keine Spur von Hämolyse auftrat. Ich kann mir die molekulare

Konzentration des Blutserums jetzt daraus berechnen, daß sich die Konzentrationen verkehrt verhalten müssen wie die Volumina; also

$$0{,}46 : x = 5 : 5 + 5$$

und

$$x = \frac{(5 + 5) \cdot 0{,}46}{5} = 0{,}92$$

Die osmotische Spannung des untersuchten Blutserums beträgt also 0,92% Na Cl, während der Wert für die Widerstandskraft der Erythrozyten mit 0,46% Na Cl gefunden wurde. Das sind auch im Durchschnitte die normalen Werte.

Diese Methode von Hamburger erfordert aber, wie wir gesehen haben, beträchtliche Mengen von Blut, welche nur durch eine Venenpunktion gewonnen werden können. Limbeck hat sie für klinische Zwecke dadurch eingerichtet, daß er anstatt der großen Eprouvetten kleine und engere Röhrchen nimmt, auf deren Boden je eine kleine Glasperle gebracht wird. Er beschickt nun jedes dieser Röhrchen mit 1 cm³ der bereitgehaltenen verschieden konzentrierten Salzlösungen und bringt in jedes Röhrchen je einen Tropfen frischen Blutes. Durch Schütteln wird das Blut defibriniert, und hierauf werden die Röhrchen sechs Stunden sich selbst überlassen. Es wird dann dasjenige Röhrchen ausfindig gemacht, in welchem eben noch kein Austritt von Blutfarbstoff in die Salzlösung stattgefunden hat, und die bekannte Konzentration dieser Lösung gibt den Wert für die Widerstandskraft der Blutkörperchen an. b) nach v. Limbeck.

Auf diesem Wege läßt sich also die Resistenz der roten Blutkörperchen ganz gut und direkt bestimmen; der osmotische Druck des Blutplasmas selbst aber ist erst auf Umwegen zu ermitteln. Bestimmung des osmotischen Druckes

In neuerer Zeit hat sich deshalb eine andere, rascher und auf einfachere Weise zum Ziele führende Methode für die Bestimmung der molekularen Konzentration des Blutes, beziehungsweise des Blutserums eingebürgert, nämlich die Gefrierpunktbestimmung. durch Gefrierpunktbestimmung.

Diese Methode beruht auf der Tatsache, daß Salzlösungen einen niedrigeren Gefrierpunkt haben als ihre Lösungsmittel, und daß die Gefrierpunkterniedrigung bei Gleichbleiben des Lösungsmittels proportional ist der Konzentration der Lösung. Neben der molekularen Konzentration der Salzlösung ist noch die Art des Lösungsmittels von wesentlichem Einfluß auf die Gefrierpunkt-

Fig. 13.



Beckmanns Apparat zur Gefrierpunktbestimmung.

erniedrigung. Durch experimentelle Untersuchungen hat man gefunden, daß die sogenannte molekulare Gefrierpunkterniedrigung des Wassers 18,6 beträgt. Das heißt: Wenn ein Grammolekül irgend einer beliebigen Substanz in 100 cm³ Wasser gelöst ist, so gefriert diese Lösung erst bei —18,6° C anstatt bei 0°. Wenn man nun das Molekulargewicht der in Lösung befindlichen Substanz kennt, so kann man sich unter Berücksichtigung des Umstandes, daß ein Grammolekül soviel Gramm Substanz ausmacht als das Molekulargewicht des betreffenden Stoffes beträgt, ohneweiters aus dem gefundenen Gefrierpunktwerte auch die molekulare Konzentration der Lösung, also ihren osmotischen Druck berechnen.

Apparat von Beckmann.

Die Bestimmung der Gefrierpunkterniedrigung nun wird jetzt allgemein mittels des Beckmannschen Apparates durchgeführt.

Der Apparat besteht zunächst aus einem weiten, zylindrischen Glasgefäße (A) mit Metall- oder Hartgummideckel, welcher in der Mitte eine weite Bohrung und an der Seite eine ganz feine Öffnung für einen „Rührer" zeigt. Dieses große Gefäß dient zur Aufnahme einer aus Eisstückchen und Kochsalz hergestellten Kältemischung. Durch die mittlere Öffnung wird in diesen Behälter ein unten geschlossenes Glasrohr B eingeschoben, das an seinem über den Deckel etwas emporragenden oberen Ende mit einem durchbohrten Kautschukpfropf verschlossen ist. In die Bohrung des Stöpsels ist ein zweites, dünneres Glasrohr C eingelassen, welches oben einen ebenfalls durchbohrten Stöpsel trägt und oberhalb des Metalldeckels des Gefäßes A einen seitlichen Ansatz aufweist, der zur Einbringung der zu untersuchenden Flüssig-

keit dient. In die Bohrung des das Gefäß C oben verschließenden Stöpsels ist ein äußerst feines, auf $^1/_{100}{}^0$ C geteiltes Thermometer derart eingefügt, daß seine Quecksilberbirne nahe dem Boden des Gefäßes C zu stehen kommt. Überdies geht durch den Stöpsel dieses Gefäßes noch der Griff eines die zu untersuchende Flüssigkeit mischenden Platinrührers, dessen Wirksamkeit einige am Boden des Gefäßes C liegende Platinblättchen zu verstärken bestimmt sind.

Man geht nun bei der Bestimmung in folgender Weise vor: Nachdem man das Gefäß A mit der Kältemischung beschickt hat, füllt man in das Glasrohr C eine genau abgemessene Menge Blutserum (oder aber defribriniertes Blut) ein, und zwar so viel, daß zum mindesten der ganze Quecksilberzylinder des Thermometers von Serum umgeben ist. Hiezu sind 8—10 cm³ erforderlich. Dann kühlt man das Rohr C zunächst dadurch ab, daß man es in die Kältemischung des Gefäßes A lehnt, so lange, bis die Temperatur nahe auf 0⁰ gesunken ist. Hierauf wird C in das weitere Rohr B geschoben und dieses in den Apparat eingelassen. Die Temperatur des Thermometers und des denselben umgebenden Blutserums sinkt auf den Gefrierpunkt und gewöhnlich durch Überkühlung sogar um ein Beträchtliches tiefer. Man soll zur Vermeidung von unkontrollierbaren Fehlerquellen dafür sorgen, daß die Überkühlung nicht mehr als einige Zehntelgrade betrage. Jetzt wird der Rührer R kräftig in Bewegung gesetzt und damit das überkühlte Serum zum Gefrieren gebracht, wobei infolge der frei werdenden Wärme das Thermometer rasch wieder auf den Wert des Gefrierpunktes emporsteigt. Sobald eine konstante Temperatur erreicht ist, wird diese mit einer Lupe abgelesen und die Bestimmung ist fertig. Die Methode ist bei sorgfältiger Ausführung äußerst genau, indem sie gestattet, noch Unterschiede von 0,005⁰ festzustellen. Außerdem ist sie, wenn man sich nur einige Male eingeübt hat, sehr leicht durchzuführen.

Genau in derselben Weise, wie ich es jetzt für das Blutserum angegeben habe, bestimmt man den Gefrierpunkt des einfach defibrinierten Blutes oder denjenigen des Harnes oder irgend einer beliebigen Salzlösung einfacher oder komplizierter Zusammensetzung. Für letztere muß man natürlich immer zuvor den Gefrierpunkt des Lösungsmittels bestimmen; auch für wässerige Lösungen ist dies erforderlich, sofern man einwandfreie und vollkommen genaue Resultate bekommen will. Man bestimmt dann

zuerst den Gefrierpunkt der genau abgemessenen Menge des Lösungsmittels und bringt dieses hernach durch Erwärmen der Röhre C wieder in den flüssigen Zustand zurück. Erst dann wird eine genauestens abgewogene Menge der zu untersuchenden Substanz in die Röhre C gebracht und in der daselbst vorhandenen Flüssigkeit von jetzt genau bekanntem Gefrierpunkte unter Mithilfe des Rührers vollständig gelöst, worauf dann der Gefrierpunkt der Lösung in der bekannten Weise bestimmt wird.

Für die Gefrierpunktsbestimmung des Blutes wird gewöhnlich das Serum, viel weniger vorteilhaft defibriniertes Blut verwendet. Der einzige Nachteil der Methode für klinische Zwecke ist der, daß man wenigstens 8—10 cm^3 Serum, also zum allermindesten 25—30 cm^3 Blut für eine Bestimmung braucht; es ist also in jedem Falle eine Venenpunktion erforderlich.

Der Gefrierpunkt des menschlichen Blutserums (δ) ist unter normalen Verhältnissen eine außerordentlich konstante Größe; er beträgt im Mittel — 0,56° C, die vorkommenden Schwankungen sind höchstens ± 0,02° C.

Harn-Kryoskopie.

Eine klinische Bedeutung gewinnt diese Zahl weniger dadurch, daß man aus ihr die osmotische Spannung des Blutserums berechnen kann, als dadurch, daß man durch gleichzeitige Nebeneinanderbestimmung des Gefrierpunktes von Blutserum und Harn einen Einblick in die Nierenfunktion zu gewinnen und so schwere Störungen derselben zu erkennen und zu beurteilen vermag. Die funktionelle Nierenprüfung auf kryoskopischem Wege wurde von Koranyi in die Klinik eingeführt und hat bereits zu einer großen Literatur über die Brauchbarkeit der hiedurch gewonnenen Werte geführt. Soviel ist feststehend, daß sie speziell für den Chirurgen bereits ein unentbehrliches Hilfsmittel geworden ist, weil sie ihm gestattet, mit einer gewissen Sicherheit sich von der funktionellen Tüchtigkeit der einen Niere zu überzeugen, ehe er die andere, kranke Niere entfernt.

Die Normalwerte für den Gefrierpunkt des Harnes (Δ) schwanken allerdings sehr viel mehr als jene des Blutserums, und zwar nach Koranyi, dessen Zahlen im wesentlichen von den späteren Untersuchern bestätigt worden sind, zwischen —1,3 und — 2,3°. Bei mangelhafter funktioneller Tüchtigkeit der Niere sinkt die molekulare Konzentration des Harnes, und damit nähert sich sein Gefrierpunkt immer mehr 0°, selbstverständlich, ohne diesen Wert zu erreichen; doch finden sich Werte von — 0,3

bis —0,6° nicht selten. Auf die verschiedenen Umstände, welche die Brauchbarkeit dieser Methode für die funktionelle Diagnostik einschränken, näher einzugehen, ist hier nicht der Platz.

Nun habe ich Ihnen zum Schluß noch über die chemischen Untersuchungen des Blutes und deren Ergebnisse in kurzen Umrissen zu berichten, und ich glaube, da zunächst von der

Alkaleszenz des Blutes

und ihrer Bestimmung sprechen zu sollen.

Das menschliche Blut reagiert gegenüber Lakmus und Lakmoid schwach alkalisch. Seine Alkaleszenz ist in hervorragendstem Maße durch Salze der Kohlensäure und in viel geringerem Grade durch neutrale oder einfach saure Salze der Phosphorsäure bedingt. Es kommen übrigens auch saure Salze im Blute vor, $NaHCO_3$ und NaH_2PO_4, welche sogar eine saure Reaktion des normalen Blutes z. B. gegen Phenolphthalein zur Folge haben, und deren Menge unter pathologischen Verhältnissen gesteigert sein kann, im allgemeinen dann, wenn der Gehalt an Alkali überhaupt ein verminderter ist.

Karbonate und Phosphate finden sich nun in allen Teilen des Blutes, im Plasma sowohl als in den zelligen Elementen, insbesondere in den Erythrozyten; ihre Summe wird als „native Alkaleszenz" des Blutes bezeichnet. Sie ist es wohl ausschließlich, welche biologisch in Betracht kommt, und deren Bestimmung überhaupt einen theoretischen und praktischen Wert beanspruchen darf. Säure wird aber nicht nur durch die alkalischen Salze, sondern auch durch die Eiweißstoffe des Blutes gebunden. Durch die Säureeinwirkung werden eben auch aus organischen Verbindungen alkalische Valenzen frei gemacht, doch kommen diese biologisch nicht in Betracht. Es hat also weder theoretischen noch praktischen Wert, eine „maximale Säurekapazität des Blutes" zu bestimmen, indem man die Säuremenge feststellt, welche, abgesehen von den Salzen, auch noch durch die vorhandenen Eiweißkörper gebunden wird. Native Alkaleszenz.

Zur Bestimmung der nativen Alkaleszenz hat man nun im Laufe der Zeit zwei wesentlich verschiedene Methoden in Verwendung gezogen.

Zuerst will ich der gasanalytischen Methode Erwähnung tun, welche bestrebt war, die Menge der Kohlensäure Gasanalyse.

festzustellen, die sich aus dem erwärmten Blute nach Säurezusatz auspumpen läßt. Das Verfahren konnte, wie sich schon aus den kurzen einleitenden Bemerkungen ergibt, nicht die gesamte Alkaleszenz des Blutes zum Ausdrucke bringen, da die Karbonate zwar den weitaus größten Teil aber nicht die Gesamtheit der alkalischen Salze vorstellen. Außerdem kommt zweifellos im Blute, namentlich im venösen, das ja bekanntermaßen reicher an CO_2 ist, auch anderweitig als an Alkalien gebundene Kohlensäure vor. Immerhin hat das Verfahren an sich zu schätzenswerten Ergebnissen geführt und die Erkenntnis der Lehre von der Säureintoxikation angebahnt. Es hat sich nämlich herausgestellt, daß namentlich bei fieberhaften Krankheiten, wie Typhus, Rotlauf, Pneumonie usw., eine wesentliche Verminderung der Kohlensäurewerte im Blute bestehe, und außerdem hat man analoge Befunde bei Coma diabeticum und bei Krebskachexie erhoben. Während z. B. Kraus, dem die ausgezeichnetsten Arbeiten auf diesem Gebiete zu danken sind, im normalen Blute 30—33 Volumsprozente CO_2 fand, konnte er bei den erwähnten Zuständen nur Werte von 9,8 bis gegen 20% erheben, wobei gleichzeitig die „Basenkapazität" des Blutes, d. h. der Gehalt an sauren Salzen, merklich gesteigert war. Ich betone nochmals, daß es vorläufig notwendig ist, diese Kohlensäureverminderung an sich und ohne Rückschluß auf die Alkaleszenz des Blutes zu betrachten.

Alkaleszenzbestimmung durch Titration

Der zweite zur Alkaleszenzbestimmung eingeschlagene Weg hat in bezug auf Gesamtalkaleszenz zu genaueren Werten geführt; er besteht in der titrimetrischen Absättigung der im Blute enthaltenen Basen durch verdünnte Säuren: **alkalimetrische Methode**. Aus der oben gegebenen einleitenden Skizze können Sie ohneweiters ersehen, daß nur jene Methoden, welche die Substanz der roten Blutkörperchen der Untersuchung ebenfalls zugänglich machen, indem sie sie zerstören, die Möglichkeit geben, die gesamte native Blutalkaleszenz zu bestimmen. Zu dieser Erkenntnis sind wir aber erst durch Löwys Untersuchungen vorgeschritten. Frühere Forscher, unter ihnen als erster Zuntz, dann Landois, v. Jaksch u. a. benützten deckfarbenes Blut zur alkalimetrischen Untersuchung und konnten daher nur den Alkaligehalt des Serums der untersuchten Blutmenge finden und zum Ausdrucke bringen. Löwy erst hat dargetan, daß man nur „lackig" gemachtes Blut zur Untersuchung verwenden dürfe,

und daß nur so die Aussicht besteht, annähernd alle alkalischen Valenzen zur Säurebindung heranzuziehen.

Die Methode von Löwy besteht im wesentlichen in folgendem: In einem 50 cm³ fassenden Kölbchen werden 45 cm³ einer 0,2%igen Ammonoxalatlösung mit 5 cm³ Blut versetzt und gemischt. Dadurch wird das Blut einesteils an der Gerinnung gehindert, andersteils wird es lackig gemacht. Von dem Gemische werden 5 cm³ mittels $^1/_{25}$ Normalweinsäure gegen Lakmoidpapier titriert; sobald am Rande des auf das Papier gebrachten Tropfens der Lösung eine rötliche Randzone auftritt, ist die Titration vollendet. a) nach Löwy.

Engel hat auf Grund dieser Methode ein „Blutalkalimeter" für klinische Zwecke, d. h. zur Bestimmung des Alkali in kleinsten, aus einem einfachen Einstiche zu bekommenden Blutmengen angegeben. Er verwendet zur Blutabmessung und Verdünnung einen Schüttelmischer nach Art der bei den Zählapparaten beschriebenen, mißt damit 50 mm³ Blut ab, mischt sie mit 5 cm³ destillierten Wassers und titriert gegen Lakmoidpapier mit $^1/_{75}$ Normalweinsäure (1 g auf 1 l Wasser). b) nach Engel.

Brandenburg sprach sich gegen die Verwendung so kleiner Blutmengen wie bei Engels Verfahren aus und hält die Venenpunktion für unerläßlich. Er mischt 5—8 cm³ Blut unter Auffüllung auf 30 cm³ mit 0,2% Ammonoxalatlösung, und titriert jedesmal 10 cm³ von dieser Mischung gegen Lakmoidpapier mit $^1/_{10}$ Normalweinsäure; im wesentlichen nimmt er also die Methode von Löwy an. Später verwendete Brandenburg zu einer Bestimmung sogar 5 cm³ Blut, die er mit destilliertem Wasser auf das Drei- bis Vierfache verdünnte und mit $^1/_{25}$ Normalweinsäure titrierte. c) nach Brandenburg.

Ein etwas komplizierteres Verfahren hat Kraus in Anwendung gebracht. Er defibriniert das Blut und macht es durch Zusatz von 2—4 cm³ säurefreien Äthers, der dann durch Erwärmen auf 40° größtenteils wieder entfernt wird, lackfarben. Dann fällt er mit dem vierfachen Volumen neutralisierter gesättigter Ammonsulfatlösung alles Eiweiß vollkommen aus und bekommt ein wasserklares Filtrat, das er sofort auf mindestens das Zehnfache verdünnt, und von welchem 20—30 cm³ gegen Methylorange als Indikator mit $^1/_4$ Normalschwefelsäure titriert werden. Wird Blutserum untersucht, so fällt er es direkt mit dem vierfachen d) nach Kraus.

Volumen von Ammonsulfatlösung aus und behandelt das Filtrat wie oben.

Es wäre weit gefehlt, wollte man die Ergebnisse, welche die verschiedenen Autoren mit ihren verschiedenen Methoden gewannen, untereinander vergleichen. Das ist ganz unmöglich, denn jeder beinahe bestimmt mit seiner Methode etwas anderes als „Alkaleszenz" des Blutes wie sein Vorgänger oder Nachfolger. Man darf also ja nicht weiter gehen, als bis zur Vergleichung der mittels gleicher Methoden gewonnenen Resultate. Und auch bei Verwendung gleicher Methoden haben verschiedene Untersucher sehr wesentlich verschiedene Werte gefunden. Es ist das ganze noch ein dunkles Gebiet. Jedenfalls müssen wir überzeugt sein, daß die gewonnenen Werte nicht absolute Richtigkeit beanspruchen dürfen, sondern nur als relative Vergleichswerte in Betracht kommen.

Die mit deckfarbenem Blute gewonnenen „Normalwerte" waren naturgemäß niedriger als die meisten später mit lackigem Blute erzielten; sie schwankten zwischen 180 und 300 mg Na OH. L ö w y fand mit seiner Methode „Normal"werte von 450 bis 500 mg Na OH, und ähnliche Zahlen gewann E n g e l. Andere Autoren aber, unter ihnen S t r a u ß, fanden mit derselben Methode nur Werte von 300—350 mg. Auch B r a n d e n b u r g fand mit seinem etwas modifizierten Verfahren nach L ö w y zunächst Normalwerte zwischen 330 und 370 mg Na OH für das lackige Blut, während das Serum 160—190 mg auswies. Mit seinem zweiten Verfahren fand er im Mittel 300 mg Na OH als Norm. K r a u s hinwiederum konnte mit seiner die Eiweißkörper ausfällenden Methode nur Alkaleszenzwerte von 185—220 mg Na OH im lackigen Gesamtblute, 116—126 mg im Blutserum nachweisen.

Eine wirkliche „Normalalkaleszenz" des Blutes läßt sich also heute noch keinesfalls angeben, und es erheischt daher die Beurteilung der Befunde bei krankhaften Zuständen noch mehr als die der normalen Werte die denkbar weitgehendste Vorsicht. Ich möchte nur einen Umstand hervorheben: Alle alkalimetrischen Methoden stehen in bezug auf Infektionskrankheiten, Krebs und Diabetes in schroffem Gegensatze zu den Gasanalysen: Sie lassen einen Schluß auf „Säuerung" des Blutes in keiner Weise zu. Manche Autoren haben normale, andere vermehrte, andere unregelmäßig schwankende Alkaleszenzwerte bei diesen Krankheitsgruppen gefunden. Eine wesentliche Verminderung der Alkales-

zenz scheint nur für Schrumpfniere und insbesondere für Urämie sowie für manche Fälle von Anämie sicherzustehen.

Neben der Gesamtalkaleszenz kann vielleicht noch die sogenannte „Alkalispannung" des Blutes für manche Probleme der Pathologie von Belang erscheinen. Das Alkali des Blutes ist nämlich zum Teile diffusibel, zum Teile aber nicht oder, besser gesagt, schwer diffusibel. Dieser schwer diffusible Teil ist an Eiweißkörper gebunden und erscheint um so größer, je eiweißreicher das Blut ist. Die Zellen enthalten weit mehr schwer diffusibles Alkali als das Plasma. Die molekulare Konzentration und damit die Gefrierpunkterniedrigung wird fast nur von dem leicht diffusiblen Alkali beeinflußt. Die Menge dieses leicht diffusiblen Alkalis, welche im normalen Blute etwa ein Fünftel der Gesamtkaleszenz nach Löwy ausmacht, wird als „Alkalispannung" bezeichnet. Sie wird neben der Gesamtalkaleszenz des Blutes in der Weise bestimmt, daß man Blut in einem Pergamentschlauch in ein zweites Gefäß bringt, welches mit Na OH-Lösung äußerst geringer Konzentration (entsprechend einem Viertel bis einem Sechstel der Alkaleszenz des Blutes) gefüllt ist. Nach vierundzwanzigstündiger Diffusion werden die Flüssigkeiten im Pergamentschlauche und außerhalb desselben auf ihre Alkaleszenz untersucht. Der bisher in dieser Hinsicht bemerkenswerteste Befund bei krankhaften Zuständen ist der, daß die absolute Menge des diffusiblen Alkali auch bei sehr wechselnder Gesamtalkaleszenz auffällig geringe Schwankungen zeigt und sich überhaupt ähnlich verhält wie die Gefrierpunkterniedrigung. Der Prozentgehalt an leicht diffusiblem Alkali steigt dagegen bei Eiweißverarmung des Blutes bis auf 33% und sinkt bei abnorm eiweißreichem Blute bis auf 16%. Alkalispannung

Eiweiß und Salze des Blutes.

Auf die eigentlichen, in strengem Sinne chemischen Untersuchungsmethoden irgendwie einzugehen, muß ich mir völlig versagen. Sie haben nichts spezifisch Hämatologisches an sich, stellen vielmehr eine einfache Übertragung der chemischen Methodik auf die betreffenden Blutuntersuchungen dar. Aber eines kann ich doch nicht unterlassen. Ich muß wenigstens in ganz summarischer Zusammenfassung die allerwichtigsten Ergebnisse

dieser Untersuchungen für das normale Blut anführen und hie und da auch eine Andeutung über belangreiche pathologische Vorkommnisse machen.

Die wesentlichste Bedeutung kommt wohl zunächst dem Gehalte an Stickstoff, beziehungsweise an Eiweißkörpern, und dann dem Salzgehalte des Blutes zu.

Normaler Stickstoff- und Eiweißgehalt.

Der Stickstoff ist nicht ausschließlich als Eiweißstickstoff im Blute vorhanden, sondern zu einem etwas wechselnden Teile auch als Extraktivstickstoff. Daher geht es nicht an, den Eiweißgehalt des Blutes einfach durch Stickstoffbestimmung und Multiplikation des gefundenen Wertes mit 6,25 zu ermitteln. Es müssen vielmehr beide Bestimmungen getrennt vorgenommen werden. Der Gesamtstickstoffgehalt des normalen Blutes beträgt nach v. Jaksch im Mittel etwa 3,6 Gewichtsprozente. Derselbe Autor ermittelte den Stickstoffgehalt feuchter Erythrozytensubstanz im Mittel mit 5,52 und jenen des Serums mit 1,37 Gewichtsprozenten. Der Eiweißgehalt des normalen Blutes dürfte im Mittel etwa 20 Gewichtsprozente betragen.

Eiweißkörper und Salze a) der Erythrozyten.

In den Erythrozyten überwiegt als Eiweißsubstanz selbstherrlich das Hämoglobin, welches rund neun Zehntel ihrer organischen Substanz ausmacht. Das Hämoglobin ist zugleich der absolut am reichlichsten vorhandene Eiweißkörper des Blutes. Von Salzen überwiegen in den Erythrozyten sehr wesentlich, und zwar etwa um das Siebenfache, die Kalisalze über die Natronsalze, indem erstere 3‰, letztere aber nur 0,47‰ ausmachen. Am konstantesten scheint der Eiweißgehalt, am schwankendsten der Wassergehalt der Erythrozyten zu sein.

Von der chemischen Konstitution der weißen Blutkörperchen weiß man am allerwenigsten; nur soviel ist sicher, daß sie viel Nuklein und somit viel Phosphorsäure enthalten.

b) des Serums.

Im Blutserum spielen wiederum die Eiweißkörper die erste Rolle; sie machen nach Hammarsten im normalen Blute etwa 7,6 Gewichtsprozente aus, und es ist bemerkenswert, daß auch bei schwer pathologischen Zuständen nur verhältnismäßig geringe Abweichungen von diesem Normalwerte beobachtet werden.

Die zwei Hauptvertreter der Eiweißkörper im Serum sind Serumalbumin und Serumglobulin, der erstere im allgemeinen etwas reichlicher vertreten als letzterer. Doch schwankt ihr gegen-

seitiges Verhältnis, namentlich unter pathologischen Verhältnissen, recht beträchtlich; den größeren Schwankungen scheint dabei das Serumalbumin ausgesetzt zu sein, während sich der Globulinwert fixer erhält. Unter den Salzen des Serums finden wir alkalische, neutrale und saure Salze vertreten; Natrium überwiegt mit 3,4‰ weitaus das Kalium, auf das nur 0,3‰ entfallen. Beide sind vorwiegend als Chloride im Serum enthalten; an zweiter Stelle folgen die Karbonate und weit zurück die Phosphate.

Von stickstoffhaltigen Substanzen spielt außer den Eiweißkörpern im Blute nur der Harnstoff überhaupt eine Rolle; unter pathologischen Verhältnissen kommen auch Harnsäure, verschiedene Xanthinbasen und Ammoniak in Betracht. Von Kohlehydraten spielt der normalerweise kaum mehr als 1‰ betragende Zuckergehalt eine Rolle, weil er krankhafterweise sehr erhöht sein kann. Sonst ist noch das gelegentlich ziemlich reichliche Vorkommen von Fett im Blutplasma hervorzuheben, ein physiologischer Befund, dessen verschiedene Grade wohl hauptsächlich von dem Maße der Fettzufuhr abhängig sind. **Harnstoff, Zucker, Fett.**

Auf das weite und viel umstrittene Gebiet der modernen Serumforschung kann ich hier ebensowenig eingehen, wie auf bakteriologische Untersuchungen. Ich werde das Notwendigste und dermalen bereits einigermaßen Klare davon im zweiten Teile meiner Vorlesungen bei Besprechung der Infektionskrankheiten vorbringen.

Für jetzt nur noch wenige Worte über die

Blutgerinnung.

Die Lehre von der Gerinnung wurde von Alexander Schmidt begründet und ist auch heute noch der Gegenstand lebhafter Kontroverse. Schmidt forderte drei Substanzen für ihr Entstehen: Die fibrinogene, die fibrinoplastische Substanz und das Fibrinferment, welches letztere nicht vorgebildet besteht, sondern durch Leukozytenzerfall aus seiner Muttersubstanz hervorgeht und dann die Verbindung von fibrinogener und fibrinoplastischer Substanz unter Fibrinausscheidung bewirkt. Später wurde und wird der Adhäsion eine große Rolle zugeschrieben, und ebenso ist es allgemein anerkannt, daß die Kalksalze einen bestimmenden Einfluß auf die Gerinnung besitzen. Freund spe-

ziell stellte sich vor, daß „die Adhäsion die Vermischung der aus ihrer Bindung an die zelligen Elemente freiwerdenden Phosphate mit den hauptsächlich im Plasma vorkommenden Kalk- und Magnesiasalzen bewirke; das führe zur Bildung von unlöslichem phosphorsaurem Kalk und damit zum Unlöslichwerden eines Eiweißkörpers mit den spezifischen Eigenschaften des Fibrins".

In letzter Zeit mehren sich die Untersuchungen, welche feststellen, daß Leukozytenzerfall zur Gerinnung nicht notwendig sei und auch in irgend wesentlichem Grade nicht vorkomme. Dagegen wird immer wieder ein Zusammenhang der Blutplättchen mit der Gerinnung betont, und zwar scheinen sie speziell zur Fibrinfermentbildung beizusteuern.

Fibrinferment.

Bildung und Aktivierung des Fibrinfermentes spielen dermalen in der Forschung über die Blutgerinnung die Hauptrolle. Ich will nur die Ergebnisse einer neuesten, umfassenden Bearbeitung dieses Kapitels durch P. Morawitz*) kurz wiedergeben.

Die unwirksame Vorstufe des Fibrinfermentes (Thrombin), welche präformiert im Blute vorhanden ist, bezeichnet Morawitz als Thrombogen. Die Aktivierung des Thrombogens erfolgt bei Gegenwart von Kalksalzen durch einen fermentartigen Körper, der als Thrombokinase bezeichnet wird. Im Blutplasma findet sich weder Thrombogen, noch Thrombokinase in erheblichem Maße; sie werden erst außerhalb der Gefäße frei, und zwar das Thrombogen früher als die Kinase. Thrombogen findet sich nur im Blute (und in der Lymphe), Kinase kann aus allen Geweben hergestellt werden.

Das Thrombogen findet nun Morawitz fast ausschließlich in den Blutplättchen; die Leukozyten enthalten wahrscheinlich keines oder höchstens geringe Spuren davon. Die Thrombokinase ist ebenfalls in den Blutplättchen zu finden, aber nur in geringer Menge; sie dürfte zum größeren Teile von anderen Elementen, speziell von den Leukozyten, geliefert werden.

Gerinnungszeit.

Die Zeit, während welcher das Blut außerhalb des Organismus gerinnt, schwankt sehr bedeutend. Man hat sich bemüht, die Gerinnungszeit methodisch festzustellen, und Vierordt sowie Wright haben diesbezügliche Verfahren ersonnen. Vierordt bewegt in einer mit Blut beschickten Kapillare ein sorg-

*) Deutsches Archiv für klinische Medizin. Bd. 79, 1904.

fältig gereinigtes Pferdehaar hin und her. Bei beginnender Gerinnung bleiben kleine Gerinnsel an ihm haften; sobald die Gerinnung vollendet ist, bleibt es wiederum rein. Die Zeit zwischen der Blutentnahme und der so ermittelten Vollendung der Gerinnung gibt die Gerinnungszeit an. Wright hat sich einen eigenen Apparat konstruiert. Ein Metallzylinder, der mit lauem Wasser von 18,5° C (oder 37°) zu füllen ist, wird von einem Ledermantel umgeben, der an seiner Außenseite neun längsgestellte Futterale für ein Thermometer und acht Kapillarröhrchen trägt. Man füllt in Zwischenräumen von einer Minute diese acht Röhrchen und notiert die Zeit ihrer Füllung. Nach Füllung der letzten werden in 1½—2 Minuten die Röhrchen der Reihe nach wieder aus ihren Behältern genommen und man versucht, das Blut aus ihnen herauszublasen. Bei einem Röhrchen gelingt das nicht mehr; die Zeit, welche von der Füllung dieser Kapillare bis zur Beendigung des Versuches vergangen ist, gibt die Gerinnungszeit an.

Beide Methoden sind wenig vollkommen und geben gewiß keinen sehr verläßlichen Aufschluß. Nur so viel dürfen wir als gegeben hinnehmen, daß die Gerinnungszeit des Blutes unter verschiedenen Verhältnissen sehr bedeutend schwankt, und zwar zwischen drei und zwölf Minuten.

---

6. Vorlesung.

(Histologische Blutuntersuchung. Nativpräparat.)

Wir gehen nunmehr zur Besprechung der histologischen Blutuntersuchung über.

Für diese Untersuchungen stehen uns, abgesehen von den bereits besprochenen Zählpräparaten, an denen man ja ebenfalls mit Erfolg histologische Einzelheiten feststellen kann, zwei Wege zur Verfügung: Erstens die Untersuchung des frischen Blutes, zumeist ohne jeden Zusatz, zweitens die Untersuchung von Bluttrockenpräparaten.

Schnittmethode a) nach Biondi.

Wohl nur selten kommen Präparate in Verwendung, welche nach Art jener Methoden hergestellt sind, die sonst zur Erzeugung von Organschnittpräparaten in der pathologischen Histologie verwendet werden. Ich führe diese von Biondi herrührende Schnittmethode gleich hier in aller Kürze an. Man läßt einige Tropfen Blutes in etwa 5 cm^3 einer frischen 2%igen Lösung von Osmiumsäure fallen, mischt und läßt die Osmiumsäure durch 24 Stunden einwirken. Dann werden einige Tropfen der Mischung mit verflüssigtem Agar bei Körpertemperatur gemengt und in kleine Kästchen ausgegossen, welche mehrmals in 85%igem Alkohol gehärtet werden und dann wie die gewöhnlichen histologischen Präparate geschnitten und gefärbt werden können.

b) nach P. Grawitz.

Eine etwas andere Methodik gibt P. Grawitz an; er läßt die Bluttropfen in Flemmingsche Lösung fallen und darin ruhig durch 24 Stunden liegen. Dann werden die Klümpchen stundenlang in fließendem Wasser gewaschen, in Alkohol gehärtet, in Paraffin eingebettet und weiter behandelt wie histologische Präparate.

Vermöge der flüssigen Beschaffenheit seiner Interzellularsubstanz sind wir in der Lage, das Blut ohne jeden fremden Zusatz in ganz dünner Schichte zu untersuchen und uns so in

der denkbar einfachsten und einwandfreiesten Weise sehr viele wichtige Verhältnisse des Blutes zu Gesichte zu bringen. Wir verwenden hiezu

das frische Blutpräparat (Nativpräparat).

Herstellung des Nativpräparates.

Zur Herstellung eines solchen brauchen wir nur einen mit Wasser gereinigten Objektträger und ein ebenso oder mit Alkohol-Äther gereinigtes Deckglas. Ein frisch aus dem Ohrläppchen hervorquellender Tropfen wird durch Berührung seiner Kuppe mit dem Deckglase auf die Mitte dieses übertragen, worauf man das Deckglas sofort vorsichtig auf den bereitgehaltenen Objektträger fallen läßt; waren beide Gläschen völlig rein, so verteilt sich jetzt der Bluttropfen zwischen ihnen in einer mehr oder weniger gleichmäßigen Schichte, und das Präparat ist fertig. Wenn es für längere Untersuchungen brauchbar sein soll, ist es vorteilhaft, dasselbe durch einen Einschluß mit Vaselin oder mit Xylol-Asphaltlack vor Verdunstung zu schützen.

Bei der Herstellung des Nativpräparates sind folgende Punkte zu berücksichtigen. Deckglas und Objektträger müssen frei von Fett und von jedem Stäubchen sein. Es ist am besten, sie unmittelbar vor der Herstellung des Präparates erst zu reinigen und jedes etwa nach der Reinigung noch daraufgefallene Stäubchen durch vorsichtiges „Abblasen“ wieder zu entfernen. Das Deckglas faßt man an der einen Schmalseite mit einer geraden „Deckglaspinzette“ mit breiten und dünnen, in eine möglichst scharfe Kante auslaufenden Branchen. Die Hand bleibt dem Bluttropfen und dem Deckglase am besten völlig ferne. Das Deckglas soll nicht ganz dünn sein, da es sich sonst zu leicht über der Oberfläche des vielleicht etwas langsam zerfließenden Tropfens krümmt, muß aber dünn genug sein, um eine Untersuchung mit der Immersionslinse zu gestatten. Diesen Ansprüchen genügen am besten Deckgläser von 0,12—0,15 mm Dicke. Es ist auch notwendig, das Gläschen dem Tropfen sehr rasch zu nähern und sich mit ihm rasch wieder von der Nähe der Körperoberfläche zu entfernen, weil sich sonst an seiner unteren Fläche ein von der Hautausdünstung erzeugter Flüssigkeitsbeschlag bildet, der die Brauchbarkeit des Präparates beeinträchtigen muß. Man halte also das Deckglas in der Pinzette so lange dem Körper fern, bis der Tropfen genügend groß geworden ist, dann fange man durch

flüchtige Berührung seiner Kuppe den Tropfen auf und entferne das Deckglas ebenso schnell.

Niemals darf man das Glas auf den Tropfen aufdrücken; solche Präparate sind erstens wegen des immer entstehenden reichlichen Flüssigkeitsbeschlages und dann wegen der unvermeidlichen Verunreinigung durch Elemente der Epidermis unter allen Umständen unbrauchbar; der Tropfen zerfließt nie mehr tadellos zwischen Deckglas und Objektträger, wie das für ein ordentliches Präparat gefordert werden muß. Das Deckglas soll auch nicht gar zu groß sein. Für dünnflüssiges Blut bei allen möglichen Formen von Anämie allerdings ist die Größe und Dicke des Deckglases von geringem Belang, weil solches Blut sich auch unter den schlechtesten Verhältnissen im Augenblicke zerteilt. Bei annähernd normal oder gar abnorm zellreichem Blute aber erfolgt die Zerteilung an und für sich langsamer, und daher ist die Gefahr einer ungleichmäßigen Ausbreitung des Tropfens um so größer, je größer das Deckglas ist; es kommt aber alles darauf an, daß der Tropfen rasch, ohne Zögern und gleichmäßig zerfließe.

Wahl der Tropfengröße. Von der größten Wichtigkeit ist nun die Dicke des Präparates, d. h. die zu wählende Tropfengröße. Für die Untersuchung des frischen Blutes können wir zwei Arten von Präparaten brauchen; ein dickeres, in welchem die Erythrozyten zum größten Teile oder durchwegs in Rollenbildung (siehe unten) aneinander gelagert sind, und ein dünneres, welches so zu wählen ist, daß die roten Blutkörperchen zum größten Teile einzeln nebeneinander liegen, ohne aber von Seite des Deckglases einen Druck zu erleiden. Die Wahl der richtigen Tropfengröße ist Sache der Erfahrung. Man lernt das bald. Wenn es leicht durchführbar ist, empfehle ich immer, je ein Präparat dieser beiden Arten herzustellen; zumeist gelingt es allerdings auch, in einem einzigen, mitteldicken Präparate Stellen beiderlei Art zu finden und alle wünschenswerten Beobachtungen sonach in einem einzigen Präparate zu machen.

Zeit der Beobachtung. Für einen Teil der Beobachtungen soll das Nativpräparat sofort nach seiner Herstellung verwendet werden, ein anderer Teil hat wenigstens keine so große Eile, ein dritter kann sogar erst nach einer gewissen Pause (10—15 Minuten) gemacht werden. In jedem Falle soll man also immer das Mikroskop bei der Hand haben. Wenn man Nativpräparate im Verlaufe einer vollständigen Blutuntersuchung herstellt, ist es ratsam, sie immer erst

am Schlusse der Blutentnahme, nachdem bereits für alle übrigen Dinge gesorgt ist, zu machen, damit eben sofort an ihre mikroskopische Untersuchung geschritten werden könne.

Ziele der Untersuchung des Nativpräparates.

Wir können im Nativpräparat über den weitaus größten Teil der belangreichen histologischen Eigenschaften und Veränderungen des Blutes Aufklärung bekommen und können uns sogar über manche Dinge besser unterrichten als selbst bei Untersuchung des Trockenpräparates. Allerdings gehört schon eine große Erfahrung dazu, um feinere Unterscheidungen im frischen Präparate zu treffen. Aber einen Überblick über das Gesamtbild des Blutes kann auch der minder Erfahrene erhalten, nur darf er sich nicht zu übereilten Schlüssen hinreißen lassen. Darin liegt beinahe eine Gefahr. Ich habe nichts häufiger gesehen, als daß aus Nativpräparaten wegen mangelhafter Erfahrung falsche, weil zu weit gehende Schlüsse gezogen wurden. Ich kann also denen von Ihnen, welche noch nicht durch eine große Zahl von Beobachtungen ihren Blick und ihr Urteil geschärft haben, nur raten, mit ihren Schlüssen im höchsten Grade vorsichtig zu sein und sich wirklich auf das zu beschränken, was man leicht feststellen und mit gutem Gewissen behaupten kann.

Der Hauptwert des Nativpräparates liegt meines Erachtens darin, daß man sich aus ihm in wenigen Augenblicken eine Übersicht über das Blut verschaffen kann, wenigstens so weit, daß man weiß, wonach man nunmehr mit anderen Methoden zu forschen hat. Wenn man ein Blut das erstemal untersucht, sollte man immer der weiteren Untersuchung die orientierende Beobachtung eines Nativpräparates vorausschicken, um sich einerseits unnütze Arbeit zu ersparen, und um andererseits in der Wahl der weiteren Methoden keinen Fehlgriff zu tun.

Wahl der Vergrößerung.

Wenn man eine Übersicht bekommen will, darf man aber nicht eine starke Vergrößerung verwenden. Es ist nichts ungeschickter und verwerflicher, als auf jedes Blutpräparat sich gleich mit der Immersionslinse zu stürzen, wie dies leider so allgemein Brauch geworden ist. Mit der Immersion sieht man Einzelheiten der Zellen, aber ein klares Gesamtbild gibt sie nicht. Ich verwende immer zunächst und überhaupt vorwiegend mittelstarke Trockensysteme, z. B. mit besonderer Vorliebe Zeiß C mit Okular 3 oder DD mit Okular 2 oder 3; von Leitz und Reichert wären

Objektiv 6 und Okular 2 am Platze. Erst wenn man über eine Einzelheit im Zweifel ist, stellt man auf sie die Immersion ein.

Zunächst nehmen im Nativpräparate die roten Blutkörperchen unsere Aufmerksamkeit in Anspruch, und tatsächlich können wir uns auch im Nativpräparate hie und da ein Urteil bilden über ihre Zahl, sicher über ihre Rollenbildung und sonstige Anordnung, über ihren Farbstoffgehalt, über ihre absoluten und relativen Größenverhältnisse, ihre Form und gegebenenfalls auch über das Vorhandensein eines Kernes. Andererseits können Täuschungen hervorgebracht werden durch Eintrocknungs-, beziehungsweise Schrumpfungsvorgänge an ihnen ebenso wie durch gegenseitigen oder durch Deckglasdruck.

Die Gesamtzahl der roten Blutkörperchen.

Über die Gesamtzahl der roten Blutkörperchen im Kubikmillimeter des untersuchten Blutes ein Urteil aus dem Nativpräparate abzugeben, ist eine der schwersten Aufgaben, erfordert große Erfahrung und ist auch bei Vorhandensein dieser nur dann möglich, wenn die Abweichungen von der Norm extreme sind. Veränderungen in mäßigen Grenzen, d. h. um etwa zwei Millionen nach unten und oben von der Normalzahl, lassen sich auch für den Geübtesten nicht erkennen.

Oligozythämie. Besonders hochgradige Oligozythämie, Verminderung der Erythrozyten, etwa von zwei Millionen abwärts, ist hiegegen leicht zu erkennen, wenn man die Zahl der Erythrozyten im Gesichtsfelde und die Dicke des Präparates berücksichtigt und beide Momente gegeneinander abwägt. Hat man nach den gleich zu erwähnenden Anhaltspunkten ein Recht, das Präparat verhältnismäßig dick zu nennen, und finden sich trotzdem die Erythrozyten einzeln liegend und durch beträchtliche Plasmaräume getrennt, so kann man eine Verminderung diagnostizieren. Aber man darf sich nicht durch die Betrachtung eines Gesichtsfeldes oder einiger zu einem solchen Schlusse verleiten lassen. Da heißt es immer, das ganze Präparat übersehen und sich an den verschiedensten Stellen von der Gesetzmäßigkeit des Befundes überzeugen. Gewöhnlich konnte man bei solchem Blute schon während der Herstellung des Präparates seine Dünnflüssigkeit erkennen.

Den Grad der Verminderung in diesen der Beurteilung überhaupt zugänglichen Fällen erschließen zu wollen, soll sich auch der Erfahrenste lieber versagen. Überhaupt wird man in solchen Aussprüchen um so bescheidener, je mehr man weiß und je mehr man gesehen hat.

Das ganz entgegengesetzte Verhalten des Nativpräparates kann in anderen Fällen die Diagnose einer Polyzythämie, d. h. einer hochgradigen Vermehrung der Erythrozyten, nahe legen oder gar ermöglichen. Dazu gehört aber, daß das Blut mindestens acht bis neun Millionen Rote aufweist; bei niedrigeren Zahlen wird man sich kaum zu einem Schlusse aufschwingen dürfen. Polyzythämie.

In dem erwähnten Falle erscheint der Bluttropfen von vorneherein auffällig dunkel, zerfließt auf dem Ohrläppchen überhaupt nicht, und auch unter dem Deckglas überlegt er sich das, namentlich wenn irgend ein kleinstes Hindernis da ist, zuvor recht gründlich. Man sieht sich immer gedrängt, durch einen kleinen Tupfer mit der Pinzette nachzuhelfen, obwohl dies unter anderen Verhältnissen wegen der Erzeugung von Kunstprodukten strenge verboten ist. Bringt man ein solches Präparat nun in das Gesichtsfeld, so ist die ganz ungewohnte Kleinheit der Plasmaräume, z. B. zwischen den Rollen, ein äußerst auffälliges Symptom, das sich an allen Präparatstellen, dicken und dünnen, immer wiederholt. Es drängt förmlich ein Blutkörperchen das andere. Immerhin muß man auch das zuvor schon gesehen haben, ehe man imstande ist, es mit einiger Wahrscheinlichkeit im Nativpräparate zu erkennen.

In allen übrigen Fällen, also überhaupt immer mit Ausnahme der Fälle von hochgradiger Oligozythämie (unter zwei Millionen) und hochgradiger Polyzythämie (über acht Millionen), ist es kaum möglich, sich aus dem Nativpräparate ein berechtigtes Urteil über die Erythrozytenzahl zu bilden. Es ist daher klug und ratsam, bei der Beurteilung des Nativpräparates in allen diesen Fällen von der Erythrozytenzahl überhaupt nicht zu reden.

Viel besser schon vermag man auch die Anordnung der Erythrozyten, speziell das Vorhandensein und den Grad der sogenannten

„Rollenbildung“ oder „Geldrollenbildung“ zu beurteilen.

Ich muß bei diesem Anlaß ein wenig weiter ausholen, da die Rollenbildung zum Teile mit der Form der Erythrozyten zusammenhängt. Der normale Erythrozyt ist eine runde, flache Scheibe von ungleichmäßiger Dicke, deren Längendurchmesser im Mittel 7,5 μ und deren größter Dickendurchmesser etwa 2,5 μ beträgt. Sodann besitzen die Zellen eine gewisse Klebrigkeit ihrer Oberfläche und liegen in einer visciden Flüssigkeit eingebettet. Dies alles sind Momente, welche, abgesehen und unabhängig von der Weite der Gefäße, die gegenseitige Lagerung der Erythrozyten im strömenden Blute und auch in einem genügend dicken Präparate bestimmen. Vermöge aller dieser Umstände nämlich legen sich schon im kreisenden Blute die Erythrozyten mit ihren Flächen derart aneinander, daß sie mehr oder minder lange Rollen bilden, analog den Metallgeldrollen.

Dicke des Präparates.

Die gleiche Rollenanordnung behalten die normalen Erythrozyten auch im Nativpräparate, vorausgesetzt, daß ihnen Raum genug zur Verfügung steht, daß sie nach allen Seiten frei im Plasma zu schwimmen vermögen. Sowie aber von irgend einer Seite ein Druck auf sie ausgeübt wird, fallen die Rollen auseinander. Sie werden also eine vollkommen unveränderte Rollenbildung nur dort erwarten können, wo das Nativpräparat mindestens 10 μ dick ist, bei Untersuchung dünnerer Stellen aber sind Sie nicht berechtigt, ein Urteil über die Fähigkeit zur Rollenbildung abzugeben. Darin liegt auch ein Fehler sehr vieler Anfänger; sobald sie an einer Stelle keine Rollen sehen, schließen sie daraus, die Rollenbildung sei herabgesetzt!

Der Umstand nun, ob das Präparat die richtige Dicke hat oder nicht, ist leicht festzustellen. Ist die besichtigte Präparatstelle dick genug, wird doch immer irgendwo, auch bei höchstgradiger Herabsetzung der Rollenbildung, der eine oder der andere Erythrozyt auf der Kante stehen, oder es werden einige aneinandergelehnt in dieser Stellung verharren. Das aber ist schon ein Zeichen, daß die Erythrozyten nicht durch Deckglasdruck gezwungen sind, auf der Fläche zu liegen, eine solche Stelle ist schon annähernd brauchbar. Immer wird man sich aber, um sicher zu gehen, Stellen aussuchen, wo viele Erythrozyten einzeln oder

in Verbänden die Kantenstellung einnehmen. So dick darf aber das Präparat andererseits wieder nicht sein, daß die Rollen zu ganzen Knäueln geballt beieinander liegen, vielleicht mehrere Rollen übereinander. Diese Stellen könnten infolge der Haufenbildung dem minder Erfahrenen eine gute Rollenanordnung vortäuschen, wo sie in Wirklichkeit vermindert ist.

Bei richtiger Präparatdicke bilden normale Erythrozyten scharf abgegrenzte, vielfach leichtgewundene Rollen von 10, 20, auch 30 Zellen; daneben liegen kürzere Rollen oder es liegen zwei bis drei Zellen übereinander auf der Breitseite, hie und da ist auch eine einzelne Zelle zu sehen, die dann häufig in den minimalen Strömungen der Flüssigkeit leicht hin- und herschwankt. Zwischen den Erythrozyten liegen zellfreie Plasmaräume beträchtlicher Größe. An etwas dünneren Stellen stehen die Erythrozyten in den Rollen nicht mehr ganz senkrecht, sondern leicht schräge, wie angelehnt, und bieten dann dem Beobachter eine etwas größere Fläche dar. Ist das Präparat einmal so dünn, daß die Erythrozyten bei Kantenstellung einen Druck durch das Deckglas erleiden, so fallen die Rollen allmählich immer vollständiger auseinander, die Erythrozyten liegen fast durchwegs einzeln auf der Breitseite oder es liegen zwei bis drei Zellen schräge aneinander gelehnt. Aus solchen und aus anderen, noch dünneren Stellen kann man über die Rollenbildung des untersuchten Blutes unter keinen Umständen ein Urteil abgeben; da sieht ein Blut mit der besten Rollenbildung in dieser Beziehung nicht anders aus als eines mit hochgradiger Herabsetzung. Normale Rollenbildung.

Herabsetzung der Rollenbildung äußert sich an entsprechend dicken Präparatstellen dadurch, daß die Erythrozyten, auch wenn man sie sogleich nach Herstellung des Präparates zu beobachten beginnt, doch zu einem Teile nur in ganz kurzen Röllchen aneinander liegen, und daß auch diese nicht festgefügt erscheinen. Die übrigen zeigen dabei überhaupt keine Rollenanordnung, sondern liegen in unregelmäßigen Gruppen beisammen. Eine solche Stelle sieht gegenüber der Gleichmäßigkeit bei guter Rollenbildung geradezu wie zerzaust aus, weil alles regellos auf der Breitseite, auf der Kante oder in Schrägstellung durcheinander liegt. Weiters äußert sich die Herabsetzung der Rollenbildung in einem ungewöhnlich raschen Auseinanderfallen der anfänglich noch vorhandenen Röllchen. Herabgesetzte Rollenbildung.

Die Ursache der verminderten Rollenbildung ist offenbar in einer Verminderung der Klebrigkeit der Zellen und vielleicht auch der Viskosität des Plasmas durch Wasserzunahme beider bei gleichzeitiger Verarmung an Eiweiß und Salzen zu suchen. Hieraus wird es erklärlich, daß eine Verminderung der Rollenbildung in verschiedenem Grade bei allen möglichen Formen schwerer Anämie gefunden wird, also z. B. bei allen mittelschweren Chlorosen, den perniziösen Anämien, schweren karzinomatösen oder Blutungsanämien. *Eine irgendwie nennenswerte praktische Bedeutung kommt dem Befunde der verminderten Rollenbildung also gar nicht zu*; er ist eben nur ein augenfälliges Attribut aller mit beträchtlicher Hydrämie einhergehenden Anämien, und allenfalls könnte seine Ausbildung dem geschulten Auge als mikroskopischer Gradmesser der bestehenden Hydrämie dienen, einen weiteren Wert für die Differentialdiagnostik aber hat er nicht.

Erhöhte Rollenbildung.

Für eine *Vermehrung der Rollenbildung* fehlen zunächst mikroskopisch eindeutige Charaktere. *Hayem* hat eine vermehrte Klebrigkeit der roten Blutkörperchen bei chronischen Ikterusformen, insbesondere bei der hypertrophischen Lebercirrhose (Type *Hanot*) angenommen, und es wird auch mehrfach in der Literatur eines solchen Befundes Erwähnung getan. Ich selbst habe mich von dem wirklichen Bestehen eines solchen, trotzdem ich auch in dieser Beziehung vieles gesehen habe, bisher niemals zu überzeugen vermocht. Es kommt ja allerdings vor, daß zwei rote Blutzellen aneinander haften und bei leichten Bewegungen einander förmlich in die Länge ziehen — aber das kann man auch im normalen Blute beobachten. Und sonst kenne ich kein Kriterium für vermehrte Rollenbildung. Ich meine, daß bei objektiver Kritik von diesem Befunde nicht viel übrig bleiben wird.

Dünne Nativpräparate.

Während ich für die Beurteilung der Rollenbildung also ein dickeres Präparat unbedingt brauchte, muß ich für die Beobachtung der nunmehr zu besprechenden Eigenschaften der roten Blutkörperchen dünnere Präparate oder eine dünnere Präparatstelle zu Rate ziehen. Nunmehr sollen die Erythrozyten durchaus oder wenigstens in der Mehrzahl voneinander gesondert einzeln auf ihrer Breitseite liegen, ohne aber durch den Druck des Deckglases auch in dieser Lage geschädigt zu werden. Da

der größte Dickendurchmesser der Erythrozyten etwa 2,5 μ beträgt, wird jede zur Beobachtung verwendbare Stelle eines Nativpräparates unbedingt 4—5 μ Dicke besitzen müssen. Kennzeichen dessen ist, daß die Erythrozyten durchaus und überall deutlich ihre hellere Mittelzone, die Delle, zeigen. Ist das Präparat noch dünner, so verschwindet die Delle immer vollständiger, da jetzt die dickeren Randteile des Blutkörperchens durch den Druck ebenfalls abgeplattet werden; die Zelle wird etwas größer und überall gleichmäßig dick. Solche Partien des Präparates, wo nur mehr einzelne Erythrozyten ihre Delle aufweisen oder vielleicht gar keiner mehr, sind für alle Untersuchungen vollkommen unbrauchbar und könnten den Mindergeübten außerordentlich leicht zu groben Fehlschlüssen verleiten. Es ist immer noch viel besser, man verwendet eine etwas überschüssig dicke Stelle als eine zu dünne.

Die erste Eigenschaft der Erythrozyten, welche uns bei Besichtigung des Nativpräparates in die Augen fällt, weil sie große Verschiedenheiten aufweisen kann, ist ihr

Farbstoffgehalt.

Unter dem Mikroskope weisen die Erythrozyten bekanntlich einen gelben Farbenton mit leichtem Stich ins Grünliche auf, dessen Stärke ausschließlich abhängig ist von dem Hämoglobingehalte der einzelnen Zellen. Normales Blut erscheint kräftig gefärbt, die einzelnen Zellen sind an ihrem Rande scharf gegen das farblose Plasma abgegrenzt, und in der Zelle selbst wird ein etwas hellerer mittlerer Bezirk, welcher der Delle entspricht, von einem breiten und stark gefärbten Randteile umgeben. Die Delle tritt unter diesen Verhältnissen nur wenig scharf hervor. Die Färbung ist in allen Zellen annähernd gleich stark, wenigstens fehlen dem Auge leicht erkennbare Unterschiede. **Normaler Befund.**

Im krankhaft veränderten Blute nun sind die Verhältnisse ganz wesentlich verschieden. Es gibt zunächst sehr viele Blutarten, wo der bei der Besichtigung des Bluttropfens erkennbaren Blässe ein analoges Verhalten der einzelnen roten Blutkörperchen im Nativpräparate entspricht. Die Zellen erscheinen dann eigentümlich unscharf begrenzt, das ganze Präparat ist wie verschwommen, als wenn ein Schleier über das **„Chloranämie."**

Gesichtsfeld ausgebreitet wäre. Man fühlt sich förmlich versucht, die Linse auf ihre tadellose Reinheit zu prüfen. Dabei ist die Färbung der Zellen sichtlich blässer, und insbesondere erweist sich die Delle als sehr deutlich und groß, während der unscharf gefärbte Randteil auf eine schmale Zone eingeengt ist.

Perniziöse Anämie und Verwandtes.

Ganz besonders auffällig wird die Veränderung, wenn man ein Gegenstück daneben betrachten kann, ein anämisches Blut des andersartigen Typus. Hier ist der Bluttropfen ebenfalls blaß, gleich stark oder noch mehr als der erste, das Blut erscheint wässerig. Beim Blick in das Mikroskop aber ist man erstaunt über die ganz auffallend gute und starke Färbung der Erythrozyten. Die einzelnen Zellen heben sich scharfrandig und plastisch vom Plasma ab, ihr Farbenton ist ein satter, der gefärbte Randteil ein breiter, und wenn die Delle groß ist, so handelt es sich im allgemeinen um wesentlich vergrößerte Zellen, bei denen also breiter gefärbter Saum und verhältnismäßig große Delle nebeneinander bestehen können. Zumeist ist die Färbung mindestens ebenso gut wie im normalen Blute, ja die Zellen heben sich noch schärfer und farbensatter ab. Allerdings finden sich in einem solchen Blute auch stets blasse Zellen vor, sogar ganz außerordentlich blasse; aber sie sind weitaus in der Minderzahl, das Gesichtsfeld beherrschen vollkommen die stark gefärbten Zellen, und diese sind es, die dem Gesamtbilde den Stempel aufdrücken. Der Gegensatz zwischen der Blässe des Gesamtblutes und zwischen der außerordentlich guten Färbung der einzelnen Zellen ist geradezu verblüffend.

Die Aufklärung für den scheinbaren Widerspruch werden Sie allerdings bei einigermaßen genauerer Besichtigung des Präparates finden: im ersteren Falle, wo das Blut geradeso wie im zweiten Falle — sagen wir — 25% des normalen Gehaltes an Hämoglobin aufgewiesen hat, läßt sich im Nativpräparate eine Verminderung der Erythrozyten nicht feststellen, im zweiten Präparate ist die Spärlichkeit der Zellen hiegegen auch an dicken Partien auffällig; und würden Sie zählen, so fänden Sie im ersten Blute vielleicht 3,500.000, im zweiten aber rund 1,000.000 Erythrozyten.

Der scheinbare Widerspruch liegt darin, daß Sie bei Besichtigung des Bluttropfens und bei der Hämometrie den absoluten Hämoglobingehalt des Gesamtblutes abschätzten, während Sie im Mikroskope nur den Hämoglobingehalt und Hämoglobinwert

des einzelnen Erythrozyten sehen; Sie beurteilen also im mikroskopischen Präparate nicht den Gesamthämoglobingehalt, sondern den Färbeindex des Blutes. Blaß können im Mikroskope auch die Zellen eines Blutes aussehen, welches 120%, also mehr als normal Hämoglobin besitzt; Bedingung ist nur, daß dann die Zahl der Erythrozyten neun oder zehn Millionen beträgt. Dagegen können die Zellen einer mit dem Tode ringenden perniziösen Anämie aufdringlich stark gefärbt sein, also hämoglobinreich erscheinen, obwohl der Gesamthämoglobingehalt vielleicht 12 oder 15% ausmacht. Dafür beträgt aber ihre Erythrozytenzahl eine halbe Million und ihr Färbeindex ist 1,2—1,5.

Diese Beobachtung kann also, so einfach sie ist, sogleich von entscheidender diagnostischer Bedeutung werden, und ich bitte Sie, solche scheinbar kleinliche Dinge ja nicht zu mißachten.

Färbungsunterschiede zwischen den einzelnen Erythrozyten.

Die Abschätzung der Färbungsstärke ist Sache der Übung; das läßt sich nur durch Sehen und Wiedersehen und Wiedervergleichen erlernen. Alle noch so schönen Worte sind nutzlos. Für den Anfang ist der Vergleich mit einem annähernd normalen Blute von überzeugender Kraft und sehr zu empfehlen. Zögern Sie nicht, sich selbst ein kleines Tröpfchen aus dem Finger abzuzapfen, wenn Sie sich ohne Vergleich über den Befund nicht vollkommen klar sind. Einfacher ist die Beurteilung dann, wenn in demselben Präparate gut gefärbte und blasse Zellen nebeneinander vorkommen; dann gibt eben das eine Präparat selbst das Vergleichsmaterial, und man kann nicht nur feststellen, daß z. B. die überwiegende Mehrzahl der Zellen stark gefärbt sei, sondern man kann auch die Zahl und den Grad der vorhandenen Färbungsunterschiede schätzungsweise beurteilen. Bei den Blutsorten mit niedrigem Färbeindex ist dies kaum möglich, weil dort die Zellen fast durchwegs gleich stark gefärbt erscheinen oder doch so geringe Unterschiede aufweisen, daß sie nur bei genauester Besichtigung zur Wahrnehmung kommen.

Bei einiger Übung kann man ein Blut, dessen Färbeindex unter 0,7 steht, bereits mit Sicherheit als „blaß" erkennen. Bei stärkerer Herabsetzung des Färbeindex ist ebenfalls innerhalb weiter Grenzen eine Abschätzung möglich, indem der Erfahrene meistens wird sagen können: „Dieses Blut hat ungefähr 0,5 oder

es hat weniger als 0,5 Färbeindex." Auf weitergehende Schätzungen lasse man sich aber nicht ein. Werte über 0,7 sind nicht leicht als „Blässe geringen Grades" zu erkennen, ebenso ist es schwer, eine Erhöhung des Färbeindex über die Norm aus dem Nativpräparate zu diagnostizieren. Man begnüge sich, die intensive Färbung, welche einem Färbeindex von mindestens 1 entspreche, festzustellen.

Beobachtungsfehler.

Täuschungen habe ich bei Mindergeübten aus mehrfachen Gründen entstehen sehen. Zunächst durch ungeeignete Präparatstellen, zu dicke oder zu dünne. Die ersteren sind wenig geeignet zu solcher Beobachtung, weil man die einzelnen Zellen zu ungenau sieht, die letzteren sind überhaupt unbrauchbar, weil die Zellen zu gleichmäßig dicken und gleichmäßig gefärbten Platten zerquetscht sind. Sobald die Delle fehlt, ist die Beurteilung der Färbung im frischen wie im gefärbten Präparate unendlich erschwert, und jeder Erfahrene wird ein Urteil nach einem solchen Bilde einfach ablehnen. Endlich könnten geschrumpfte Zellen, welche kleiner, dunkel gefärbt und dellenlos erscheinen, einmal zu einer Täuschung führen; ein sehr unaufmerksamer Anfänger könnte sich auch dadurch irreführen lassen, daß vielleicht an einer oder mehreren Stellen zwei Blutkörperchen übereinander liegen und deshalb die oben liegende Zelle dunkelfarbig erscheint. Wer seine Augen offen hält, kann sich gegen solche Irrtümer immer leicht schützen.

Weitere Eigenschaften der roten Blutzellen, welche sich im Nativpräparate mit großer Genauigkeit feststellen lassen, sind die Verhältnisse von

Größe und Form der Erythrozyten.

Normale Verhältnisse: Normozyten.

Die roten Blutkörperchen des normalen Blutes zeigen bereits geringe Unterschiede in ihrer Größe. Ihr Durchmesser schwankt etwa zwischen 6—9 μ. Doch sind die Extreme innerhalb dieser Breite selten, gewöhnlich finden wir vielmehr nebeneinander nur Unterschiede von kaum merklicher Größe. Man kann wohl sagen, daß mindestens drei Viertel bis vier Fünftel der Zellen sich zwischen 7—8 μ halten; der Mittelwert ist dementsprechend auch 7,5 μ. Die eigenartige Scheibenform der Erythrozyten mit der beiderseitigen zentralen Vertiefung kommt wohl daher, daß in

dieser mittleren Partie ursprünglich der Kern der Zelle lag, der dann, ehe das zu voller funktioneller Tüchtigkeit ausgebildete Blutkörperchen seine Bildungsstätte verließ, um ins strömende Blut zu gelangen, durch Zerfall und Resorption verschwand. Das kreisende rote Blutkörperchen ist so keine vollgültige Zelle mehr; es ist gewissermaßen ein Kastrat, der für die Erhaltung der Art zu sorgen nicht mehr vermag, dafür aber seiner sonstigen Funktion in idealer Weise angepaßt ist. Durch die Scheibenform ist das Körperchen ungemein schmiegsam geworden, vermag sich allen Raumverhältnissen anzupassen ohne Schaden zu nehmen, zwängt sich durch das engste Lückchen und kehrt schließlich immer wieder, sobald es der Raum gestattet, zu seiner ursprünglichen Scheibenform zurück. Wir nennen eine kernlose Zelle von normaler Größe und Form Normozyt.

Pathologischerweise finden sich nun zunächst wesentliche Veränderungen der Größe. Es gibt hier Zellen, welche 10, 12, ja 15 μ und darüber im Durchmesser haben; wir bezeichnen diese „Riesenblutkörperchen" als Makrozyten oder Megalozyten; die ganz besonders großen hört man auch mit dem schwungvolleren Namen der Gigantozyten belegen. Auf der anderen Seite kann sich der Durchmesser sehr bedeutend verkleinern, so daß Gebilde von 5, 4, ja 2—3 μ entstehen, die noch immer ihre Scheibenform mit der zentralen Delle aufweisen und als gleichwertige, wenn auch zwerghafte Blutkörperchen anerkannt werden müssen. Wir bezeichnen die zweifellos unter der normalen Größe stehenden Zellen als Mikrozyten. **Megalozyten, Mikrozyten.**

Endlich kann wie die Größe, so auch die Form der Zellen sich ändern, beziehungsweise Schaden leiden. Der runde Kontur geht verloren, dafür wird die Zelle bei noch regelmäßig gestaltetem Rande elliptisch oder oval, schließlich treten unregelmäßige Bildungen auf, Birn- oder Ballonformen — man denkt an einen Ballon der guten alten Zeit — kommaartige oder sonst schmale und langgestreckte Gebilde, endlich regellose Gestalten mit mehreren pseudopodienartigen Fortsätzen oder gar abenteuerliche Figuren, manchmal ähnlich Insektenleibern mit knopfförmigen Fühlern und Wespentaillen, all das fast immer bei gut erhaltener, nur oft unregelmäßig nach der Form des Ganzen verzogener Delle. Diese Gebilde werden der Mannigfaltigkeit ihrer Form halber als Poikilozyten bezeichnet, und die Ver- **Poikilozytose.**

änderung selbst, das Vorkommen von mehr oder minder zahlreichen Poikilozyten nennen wir Poikilozytose.

Alle diese Dinge können wir einwandfrei und sehr bequem in einem tadellos hergestellten Nativpräparate beobachten, gerade so gut und mindestens ebenso sicher wie im gefärbten.

Grad der Veränderungen.

Wir können nicht nur feststellen, daß Mikrozyten und daß Megalozyten vorhanden sind, sondern wir können auch den Grad und die Häufigkeit der Veränderung schätzungsweise beurteilen. Und das soll man auch immer tun. Es ist nicht gleichgültig, ob hie und da ein wenig verkleinerter oder ein wenig vergrößerter Erythrozyt im Gesichtsfelde auftaucht, oder ob beinahe jede Zelle eine andere Größe hat als ihre Nachbarin, wobei die Extreme von Mikro- und Makrozyten sich oft in einem Gesichtsfelde friedlich nebeneinander finden. Ein guter Befund muß diese Verhältnisse anschaulich wiedergeben. Das gleiche gilt für die Poikilozytose. Nicht nur ihr Fehlen oder Vorhandensein ist von Belang, sondern ebensosehr der Grad ihrer Ausbildung und ihrer Häufigkeit. Es gibt Fälle, wo nur hie und da ein Poikilozyt zu Gesichte kommt, während in anderen Fällen fast jede Zelle anders aussieht, und die wenigsten ihre ursprüngliche runde Form behalten haben; das ist ebenfalls klar und deutlich zu schildern.

Täuschungen.

Aber auch in dieser Beziehung muß ich Sie auf die Möglichkeit von Täuschungen aufmerksam machen. Zunächst ist die Beurteilung der Größe verschiedener Zellen desselben Präparates nicht schwer, weil man vergleichen kann. Es kommt aber gar nicht selten vor, daß der Gesamtcharakter des Blutes in bezug auf Größe verändert ist, daß die überwiegende Mehrzahl der Zellen wesentlich größer ist als normal, während eine Minderheit zweifellos dem mikrozytischen Typus angehört. Andere Blutarten kennzeichnen sich durch eine ausgesprochene Neigung zur Verkleinerung eines beträchtlichen Teiles ihrer Zellen, aber innerhalb mäßiger Grenzen, so daß die Unterschiede nicht auffallen. Wenn man je ein Präparat dieser beiden Typen bei gleicher Vergrößerung nebeneinander stellt, so ist auch der Anfänger sich sofort über das Wesentliche des Unterschiedes klar, ja er ist gewöhnlich geneigt, anzunehmen, daß da auf der einen Seite irrtümlich oder in irreführender Absicht eine andere Linse eingestellt wurde. Wenn man aber nur ein Präparat von der einen Blutart sieht, so ist es auch für den Geübten oft recht schwer zu entscheiden, ob die Durchschnittsgröße der Zellen normal oder erhöht

ist. Man lernt auch das unterscheiden, wenn man genug lebhafte und zahlreiche Erinnerungsbilder aufgestapelt hat. So lange diese noch fehlen, kann wieder ein Vergleichspräparat des eigenen Blutes aus der Verlegenheit helfen.

Es ist auch diese Entscheidung, namentlich im Zusammenhalte mit den übrigen morphologischen Veränderungen der Blutkörperchen von großer diagnostischer Bedeutung. Regelmäßig zeigen die vorwiegend megalozytischen Blutarten zugleich auch hochgradige Poikilozytose und einen hohen, oft übernormalen Färbeindex, während die Fälle von Anämien mit überwiegend normaler Zellgröße nur eine geringe Poikilozytose und eine bedeutende Herabsetzung des Färbeindex aufzuweisen pflegen.

Schrumpfungserscheinungen.

Wirkliche Täuschung über die Größe einzelner Zellen, beziehungsweise die falsche Annahme einer Verkleinerung mit Hämoglobinzunahme kann hervorgerufen werden durch beginnende Schrumpfung der Zellen infolge mechanischer Schädigung oder infolge Eintrocknung des Plasmas. Hiebei werden die Zellen unter wesentlicher Verkleinerung ihres Durchmessers rein kugelig und erscheinen dann auch dunkelmessinggelb gefärbt. Diese dunkle Färbung und das Fehlen der Delle können auch den Mindergeübten vor der Verwechslung derartiger Schrumpfungsprodukte mit Mikrozyten schützen.

Viel häufiger wird fälschlich eine Poikilozytose angenommen, dann namentlich, wenn Formveränderungen der Erythrozyten durch Quetschung und durch Schrumpfung erzeugt worden sind. Durch Schrumpfung entstehen zunächst vereinzelt, bei längerem Liegen des Präparates jedoch in großen Massen die typischen „Morgenstern- oder Stechapfelformen“. Der kugelig gewordene, daher verkleinerte Erythrozyt bekommt an seiner ganzen Oberfläche eine feine Zahnung, hervorgebracht durch spitze Zacken oder kleine warzige Vortreibungen. Am Zellrande sind sie meist in Zackenform sichtbar, auf der Oberfläche erscheinen sie als plumpe, scharf konturierte granulationsähnliche Körnchen. Wer sie nur einmal gesehen hat, wird eine derartige Stechapfelform nie mehr mit einem Poikilozyten verwechseln.

Kunstprodukte durch Quetschung.

Vor allem gefährlich sind die durch Quetschung entstandenen Verunstaltungen der Zellen. Wer sie erkennen will, muß sie gesehen haben, und das fällt ja niemals schwer; am Rande eines dünnen Präparates sind sie in hellen Haufen vorhanden. Ihre Umrisse sind zumeist eckig und kantig,

während die echten Poikilozyten doch stets bogenförmige Randlinien bevorzugen; auch läßt sich oft Abplattung gegen Nachbarzellen direkt sehen. Aber es gibt für den Mindergeübten nur *einen* Schutz gegen solche Dinge: Niemals auf das Deckglas des Präparates drücken und lieber, wenn eines nicht glatt zerfließt, ein zweites machen; und niemals zu dünne Präparate und niemals die Ränder der Präparate beobachten!

Endlich gelingt bei genügender Aufmerksamkeit und unter besonders günstigen Verhältnissen im Nativpräparate auch die

Erkennung kernhaltiger Erythrozyten.

Ich betone aber gleich, daß Ihnen die Auffindung solcher Zellen nur gelingen wird, wenn viele vorhanden sind, und wenn das Präparat die geeignete Dicke hat. Und auch dann ist so große Vorsicht notwendig, daß ich dem Mindergeübten nicht rate, leichten Sinnes die Diagnose einer kernhaltigen roten Zelle, eines *Erythroblasten*, im Nativpräparate zu stellen; der sehr Geübte kann sie allerdings gelegentlich selbst bei schwacher Vergrößerung noch erkennen, namentlich dann, wenn sie sich durch besondere Größe auszeichnen. Die Erkennung der kernhaltigen roten Zellen ist dadurch so sehr erschwert, daß ihr Kern im frischen Präparate unter allen Umständen sehr matt und unscharf erscheint. Das gilt auch für diejenigen Zellen, deren Kern sich im Trockenpräparate durch ganz besonders starke Kernfärbung und außerordentlich scharfe Abgrenzung kennzeichnet. Sehr gewöhnlich erscheint das Protoplasma kernhaltiger Zellen im frischen Präparate blässer und matter gefärbt als das der kernlosen Körperchen, und in seinem Innern sieht man erst bei genauer Einstellung den zart strukturierten, also *niemals ganz homogenen*, unscharf abgegrenzten und äußerst matten farblosen Kern.

Lichtreflexe, Vakuolen.

Ich hätte von der Möglichkeit einer solch schwierigen Unterscheidung vielleicht gar nicht gesprochen, wenn ich nicht wüßte, daß Ungeübte gar zu gerne geneigt sind, solche Diagnosen ganz unberechtigtermaßen zu machen. *Es kommt nämlich sehr häufig an oder in Erythrozyten eine helle Zone zur Beobachtung, welche kernartig aussieht und zu Täuschungen leicht Veranlassung zu geben*

vermag. Man merke sich ein für allemal: Homogene, scharf konturierte und stark lichtbrechende wirkliche oder scheinbare Innenkörper eines Erythrozyten sind niemals ein Kern. Man spricht gerne von Vakuolen. Auch das ist zumeist nicht berechtigt; gewöhnlich handelt es sich vielmehr um Lichtreflexe, welche an der wellenförmigen Oberfläche eines im Raume schräg gelagerten Körperchens vielleicht manchmal auch durch Vermittlung eines winzigen Luftbläschens entstanden sind. Sie verändern ihre Größe und wechseln die Schärfe des Konturs ganz ungeheuer bei verschiedener Einstellung der Mikrometerschraube. Es kommen auch wirkliche Zellvakuolen vor, aber auch diese sind homogen und scharf konturiert, also von einem Kerne leicht zu unterscheiden.

Damit habe ich Ihnen alles Wesentliche geschildert, was im Nativpräparate an den Erythrozyten zu sehen ist. Es ist das weitaus meiste, was an ihnen histologisch überhaupt in Betracht kommt.

Anschließen möchte ich nun sogleich die

Beobachtung der Blutplättchen.

Um die Blutplättchen im Nativpräparate sicher und gut beurteilen zu können, muß man sofort nach der Herstellung des Präparates untersuchen. In diesem ganz frischen Zustande erscheinen die Plättchen noch als mehr oder weniger deutlich abgegrenzte ovoide oder bereits etwas kantige Klümpchen von mattem Glanze, die einen Durchmesser von etwa 2—4 μ besitzen. Manchmal behalten sie diese Form auch einige Zeit hindurch bei; mir ist das einige Male aufgefallen, ohne daß ich einen Grund für diese Abweichung von dem gewöhnlichen Verhalten wüßte. Zumeist nämlich wird ihr Kontur in wenigen Minuten schon undeutlich, sie ändern ihre Form, werden „fransig", wenn sie in Gruppen beisammen liegen, fließen sie zusammen und bilden eine einzige unregelmäßig geformte, schattenhafte Masse, und schließlich nach zehn bis fünfzehn Minuten hat man seine liebe Mühe, sie überhaupt noch zu sehen. An dickeren Stellen des Präparates kann man dann fast immer einen innigen Zusammenhang der Plättchen mit der Fibrinbildung feststellen, wovon ich noch später des näheren sprechen werde.

Normale Zahl.

Im normalen Blute ist die Zahl der Blutplättchen eine geringe; wie schon oben erwähnt, soll sie nach vorgenommenen Zählungen zwischen einer Viertel- und einer halben Million schwanken. Unter diesen Verhältnissen liegen sie auch wenigstens zum großen Teile einzeln oder höchstens in ganz kleinen Gruppen beieinander, und man kann ihre Form unterscheiden.

Vermehrung.

Bei außerordentlich zahlreichen pathologischen Zuständen ist die Menge der Blutplättchen in wechselndem Grade, oft ganz ungeheuer vermehrt, so daß das ganze Gesichtsfeld mit ihnen besät erscheint. In solchen Fällen liegen sie öfters auch im ganz frischen Präparate, namentlich wenn die Gläschen nicht sorgfältig genug gereinigt waren, unmittelbar nach der Blutentnahme schon zu einem beträchtlichen Teile in großen Haufen dicht aneinander und bilden förmliche Wolken in den Plasmaräumen, indes ein anderer Teil in kleinen Gruppen oder einzeln verstreut liegt.

Während unter normalen Verhältnissen auf 10—20 Erythrozyten ein Blutplättchen kommt, mögen sie bei solcher Vermehrung wohl gar gelegentlich die Erythrozyten an Zahl erreichen. Dann drängen sie sich dem Beobachter beim ersten Blicke auf und die Feststellung ihrer hochgradigen Vermehrung stößt auf keinerlei Schwierigkeit. Geringgradige Vermehrungen lassen sich naturgemäß nicht so ohneweiters sicherstellen. Es hat das aber auch keinen Wert; man begnüge sich in solchen Fällen mit der wahrheitsgemäßen Feststellung: Blutplättchen reichlich.

Verminderung.

Ebenso ist es schwer, eine Verminderung zu erkennen, wenn sie nicht ganz besonders hochgradig ist, so daß man Gesichtsfelder absuchen muß, ehe man ein Plättchen findet. Nur wenn das bei Berücksichtigung des ganzen Präparates als Regel festzustellen ist, spreche man von einer „Verminderung" der Plättchen. Sonst genügt es zu sagen: Blutplättchen spärlich.

Wir unterrichten uns also im Nativpräparate bezüglich der Blutplättchen über nichts anderes als über ihre Zahl. Für morphologische Beobachtungen reicht das gewöhnliche Nativpräparat nicht aus. Ihre Zahl aber können wir in ihm beinahe am besten beurteilen, weil wir im Trockenpräparate die Plättchen häufig noch wesentlich schlechter sehen als hier. Sie färben sich, wie wir sehen werden, mit Ausnahme der verschiedenen Modifikationen der Methode von Romanowsky, bei allen un-

seren üblichen Färbemethoden nur sehr schwach, und oftmals hat man überhaupt Mühe, sie zu entdecken.

Am besten eignen sich zur Beurteilung ihrer Menge mitteldicke Präparatstellen ohne sehr dichte Rollenbildung; notwendig aber ist es unter allen Umständen, weite Strecken des Präparates durchzusuchen, da leicht eine Täuschung durch lokale zufällige Anhäufung stattfinden könnte.

Nur beiläufig möchte ich hier die Bemerkung anfügen, daß die von H. F. Müller seinerzeit beschriebenen „Hämokonien", feine, glänzende, höchstens 1 µ große Stäubchen mit lebhafter Molekularbewegung, wohl keine einheitlichen und keine im Blute präformierten selbständigen Gebilde sind. Ihrer Mehrzahl nach dürften sie ausgequetschte Leukozytengranula darstellen. Hämokonien.

Ein ziemlich weites Feld eröffnet sich bei Untersuchung des Nativpräparates für die Beobachtung der

Leukozyten.

Sie machen sich uns durch ihren Hämoglobinmangel und durch ihre meist beträchtliche Größe, sowie durch die bei ihrer Mehrzahl feststellbare Granulierung des Protoplasmas bemerkbar und interessant.

Wir können uns zunächst über ihre Gesamtzahl in ungefährer Schätzung ein Urteil erlauben, dann können wir aber auch mehrere ihrer wichtigsten Arten mit voller Sicherheit im Nativpräparate erkennen, zum Teile sogar sehr leicht, und können uns über deren Vorkommen und über die Rolle, welche sie in dem untersuchten Blute spielen, rasch und sicher eine bestimmte Vorstellung machen.

Das Unsicherste von all dem und das Schwierigste ist die Schätzung der Leukozytengesamtzahl. Wenn wir auch wissen, daß unter normalen Verhältnissen auf 600—800 Erythrozyten ein Leukozyt kommt, so können wir das doch nicht ohneweiters für die Beurteilung im Nativpräparate verwenden. Denn erstens können wir gar nicht übersehen, wieviel Erythrozyten annähernd im Gesichtsfelde sind, und andererseits können wir die absolute Zahl der Erythrozyten nur in Fällen extremer Abweichung von der Norm durch eine ziemlich willkürliche Schätzung innerhalb sehr weiter Grenzen begutachten. Da hört Gesamtzahl.

alle Regel und alle Angabe, wieviel Leukozyten bei dieser oder jener Vergrößerung im Gesichtsfelde sein dürfen, auf. Nur eine reiche Erfahrung, die aus parallelen Untersuchungen in der Zählkammer und im Nativpräparate geschöpft ist, kann in jedem einzelnen Falle nach der Dicke des Präparates und der vermutlichen Erythrozytenzahl die annähernd richtigen Schlüsse vermitteln.

Leukozytose. Hochgradige Veränderungen der Zahl wird allerdings auch der Mindererfahrene leicht beurteilen können. Steigt die Zahl einmal über 15.000 oder gar über 20.000 an, so liegt auch bei der Beurteilung des Nativpräparates die Tatsache der „Leukozytose" bereits klar zutage. Ist die Zahl noch höher, etwa 50.000 oder darüber, so kann man namentlich dann, wenn zugleich die Erythrozyten hochgradig vermindert sind (z. B. schwerste, länger dauernde Blutungen), einen Augenblick ganz verblüfft sein über die ungeheure Zahl von farblosen Zellen, die man im Gesichtsfelde der schwachen Vergrößerung (Objektiv C oder DD, Okular 3) vorfindet, und kann glauben, es handle sich gar um eine Leukämie. Das Verblüffenlassen gewöhnt man sich aber rasch ab, wenn man derartige Bilder einmal gesehen hat.

Leukämie. Eine wirkliche Leukämie, sei sie nun myeloid oder lymphoid, ist im Nativpräparate, sofern der Blutbefund typisch und voll entwickelt ist, kinderleicht zu erkennen, da man nicht nur die ganze ungeheure Zahl der weißen Blutzellen, sondern auch deren Art und sehr vielfach ihre pathologische Beschaffenheit mit voller Klarheit feststellen kann.

Leukopenie. Ebenso wie hochgradige Vermehrung ist auch eine ausgesprochene Verminderung der Leukozyten (Leukopenie) im allgemeinen nicht schwer zu erkennen; es darf nur die Zahl nicht höher gehen, als bis zur Hälfte des mittleren Normalwertes. Zahlen von 2—3000 also erzeugen regelmäßig auch schon im Nativpräparate den sicheren Eindruck der Leukozytenverminderung.

Bei Werten von 5000—15.000 ist die nähere Beurteilung großen Schwierigkeiten unterworfen. Man wird wohl oftmals sagen können: „Zahl annähernd normal" oder „sicher nicht vermehrt", oder aber: „Hochnormal oder leicht vermehrt" — auf nähere Zahlenangaben aber lasse man sich auch bei aller Sorgfalt der Untersuchung und bei aller Erfahrung nicht ein. Ich habe auch hier wieder die Wahrnehmung gemacht, daß der Mindererfahrene

viel kühner zu Werke geht als der durch üble Erfahrungen Klügergewordene.

Vorsichtsmaßregeln.

Die Beurteilung der Leukozytenzahl innerhalb der hier angegebenen Grenzen erfordert immerhin noch eine Reihe von Vorsichtsmaßregeln. Niemals soll ein Präparat Verwendung finden, dessen Tropfen nicht gleich beim Auflegen des Deckglases auf den Objektträger rasch und gleichmäßig auseinander geflossen ist. Sowie die Verteilung des Blutes zögert, kleben sich bereits eine Reihe von namentlich größeren Leukozyten an eines der Glasplättchen an und bleiben dort haften auch bei der späteren Ausbreitung der Erythrozyten und der übrigen nicht festhaftenden Leukozyten. So können an einer Stelle die Leukozyten in Haufen beisammen liegen, während andere weite Partien des Präparates kaum eine weiße Zelle aufzuweisen haben. Und auch, wenn der Tropfen rasch und annähernd gleichmäßig zerfloß, darf man sich niemals mit der Beobachtung eines kleinen Präparatausschnittes begnügen, sondern man muß weite Strecken absuchen und darf erst dann sein Urteil abgeben, wenn sich die Verhältnisse an allen gesehenen Stellen als annähernd gleich erwiesen haben. Am besten benützt man mitteldicke Präparate mit geringer Rollenbildung, und es ist wenigstens für den Mindergeübten gut, immer ähnlich dicke Präparate zu benützen, weil er sonst gar zu leicht Fehlschlüssen zum Opfer fällt. Es ist wohl selbstverständlich, daß man für diese Untersuchung nur ein schwaches Linsensystem (wie oben) gebrauchen kann.

Im allgemeinen werden Sie sich ja auf die genauere Beurteilung der Gesamtleukozytenzahl nur selten einlassen, da Ihnen die Kammerzählung als eine ebenso einfache wie lehrreiche Untersuchungsmethode zur Verfügung steht. Aber zur vorläufigen Orientierung, z. B. um sich ein Urteil zu bilden, wie stark man für die Leukozytenzählung verdünnen soll, dazu leistet die Beurteilung des Nativpräparates die schätzbarsten Dienste.

Erkennung einzelner Leukozytenarten.

Von noch größerem Belange scheint mir die Möglichkeit der Unterscheidung einzelner Leukozytenarten im Nativpräparate zu sein. Allerdings vermag nur der Geübte und auch der nur unter günstigen Verhältnissen, wirklich alle Leukozytenarten im Nativpräparate mit annähernder Sicherheit zu differenzieren; aber gerade die wichtigsten Zellarten, auf die es allgemein ankommt, sind auch hier schon so scharf gekennzeichnet, daß sie auch der Mindererfahrene leicht erkennt und unterscheidet.

Abhängigkeit der scheinbaren Zellgröße von der Dicke des Präparates.

Ich muß noch eine Vorbemerkung machen. Die sämtlichen Leukozytenarten sind kugelige Zellen, nicht Scheiben, wie die Erythrozyten. Dabei ist ihr Durchmesser ein sehr verschiedener, schwankend von 6 bis 15 μ und noch mehr. Sie werden also in ihrer unveränderten Form und Größe nur dann erscheinen, wenn das Präparat so dick ist, daß von keiner Seite ein Druck auf sie ausgeübt wird. So dick sind aber die für unsere Untersuchungen in Betracht kommenden Präparate nicht oft. Nur die für die Beurteilung der Rollenbildung geeigneten Stellen oder Präparate erfüllen diese Forderung mehr oder minder vollkommen, während alle Präparatstellen, in welchen die Erythrozyten auf ihrer Breitseite einzeln nebeneinander liegen, zu dünn sind für eine unveränderte Erhaltung der Leukozyten. Hier überall sind sie also gequetscht und plattgedrückt, und die nächste natürliche Folge muß sein, daß sie um ein ganz Wesentliches größer erscheinen als sie in unverändertem Zustande wirklich sind. Und diese scheinbare Vergrößerung betrifft die Zellen zunehmend nach Maßgabe der Zunahme ihres Durchmessers; die kleinsten sind am wenigsten plattgedrückt, die größten am meisten; die relativen Größenverhältnisse der Leukozyten untereinander verschieben sich in solchen Fällen ähnlich wie das Verhältnis ihres Durchmessers zum Durchmesser der Erythrozyten. Und ebenso ist die scheinbare Vergrößerung verkehrt proportional der Dicke des Präparates; je dünner die Stelle, desto größer die Leukozyten.

Das sind eigentlich ganz selbstverständliche Dinge, die jedoch hervorgehoben werden müssen, weil sonst Widersprüche zwischen Beschreibung und Bild nicht vermieden werden könnten, und weil außer der Größe auch die Deutlichkeit vieler Einzelheiten des Leukozytenbildes sich wesentlich ändert je nach der Plattdrückung der Zellen. Es ist natürlich, daß man den im Zellinnern in einer verschieden dicken Protoplasmahülle eingeschlossenen Kern um so deutlicher sehen wird, je mehr das Protoplasma durch Druck des Deckglases auf die Seite geschoben worden ist; dann wird man seinen Kontur deutlich wahrnehmen, während man in der ungequetschten Zelle kaum die Stelle sieht, wo er liegen mag. Auch die Form des Kernes erleidet gewiß unter solchen Umständen Veränderungen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Kern der polymorphkernigen Zellen in der ungequetschten Zelle in einem dichten Knäuel beisammen liegt;

durch den Druck werden seine einzelnen Teile auseinandergebreitet und heben sich mehr voneinander ab. Bei gar zu starker Quetschung können wieder einzelne Teile des Kernes, welche aneinander gepreßt werden, konfluieren, und es kann ein scheinbar einfacher Kern aus einem sicher polymorphen künstlich erzeugt werden. Auch die kleinsten Leukozyten werden in den dünneren Präparaten dem Schicksale der Plattdrückung nicht entgehen und werden demnach vergrößert erscheinen, wenn auch in geringerem Grade als ihre größer gewachsenen Kollegen.

Im besonderen nun sind drei Zellarten auch für den Mindergeübten verhältnismäßig leicht im Nativpräparate zu erkennen.

Die erste stellt zugleich die einfachste leukozytäre Zellform dar. Ihr Durchmesser beträgt im ungequetschten Zustande etwa 6—9 μ. Sie erscheinen unter solchen Verhältnissen also manchmal kleiner, manchmal ebenso groß oder größer als ein Erythrozyt; meistenteils sind sie eher etwas kleiner. In diesem Zustande erscheinen sie als matte, schwer sichtbare farblose Kügelchen von ziemlich homogenem Aussehen. Erst bei scharfer Einstellung kann man wahrnehmen, daß fast die ganze Zelle von einem großen, einfach bläschenförmigen Kerne eingenommen wird, um den nur ein schmaler Saum ebenfalls fast vollkommen homogenen Protoplasmas undeutlich zu sehen ist. Nur die größeren Formen lassen eine deutlich entwickelte breitere Protoplasmahülle gut erkennen. Lymphozyten.

In dünneren Präparatstellen sind auch die kleinsten Zellen dieser Art in verschiedenem Grade plattgedrückt. Ihr Kern tritt dann scharf hervor und ist durch eine leicht glänzende Linie von dem auch jetzt zumeist sehr schmalen und homogenen Protoplasma abgegrenzt. Der Kern ist im ganz frischen Präparate fast immer kugelrund oder oval, höchstens einmal etwas nierenförmig; bei längerem Liegen wird oftmals seine Oberfläche leicht wellig oder buchtig. Die größeren Formen dieser Zellen aber erscheinen in stark plattgedrücktem Zustande leicht doppelt so groß wie ein Erythrozyt und selbst noch größer. Auch ihr Kern ist gut abgegrenzt und einfach, aber ihr Protoplasma ist reichlicher und meistenteils nicht in gleicher Breite um den Kern angeordnet. Oftmals sieht man jetzt auch, daß es doch nicht überall ganz homogen ist. Regelmäßig dort, wo der Protoplasmasaum etwas breiter ist, bemerkt man eine kleine, unregelmäßig

begrenzte krümmelige oder körnige Einlagerung; der übrige Teil aber ist homogen.

Diese auch schon im Nativpräparate wohl charakterisierte Zellform bezeichnen wir als Lymphozyten.

Große einkernige Leukozyten.

Es gibt auch noch größere einkernige oder gelapptkernige Zellen mit annähernd homogenem Protoplasma, welche sich durch die besonders unscharfe Abgrenzung des Kernes auszeichnen. Der Geübte kann sie erkennen, der Mindererfahrene lasse sich auf die Beurteilung solcher Formen, welchen keine größere diagnostische Bedeutung zukommt, gar nicht ein.

Von diesen ungranulierten Zellen scharf getrennt ist die Gruppe der granulierten Leukozyten, von welchen wir wiederum im Nativpräparate zwei Arten leicht und sicher voneinander trennen können: eine feingranulierte und eine grobgranulierte.

Polymorphkernige neutrophile Leukozyten.

Die erstere Zellart hat einen mittleren wirklichen Durchmesser von 10—12 μ. In ungequetschtem Zustande sind sie also in ihrem Durchmesser einem Erythrozyten um etwa die Hälfte überlegen. Dabei erscheint ihre Oberfläche bei scharfer Einstellung von einer feinen, wenig lichtbrechenden, also wenig glänzenden Körnung eingenommen, und etwa in der Mitte des Zelleibes sieht man durch diese Granulation den meist sehr unscharfen und anscheinend nicht ganz regelmäßigen Kontur eines homogenen Innenkörpers hindurchschimmern: den Kern. In plattgedrücktem Zustande sind die Zellen leicht zwei- bis dreimal so groß wie ein Erythrozyt, und alle ihre Bestandteile treten schärfer hervor. Der Kern ist als ein mehrfach gewundenes oder in zwei Hauptabschnitte geteiltes, homogen aussehendes Band deutlich abgegrenzt zu sehen, das Protoplasma erscheint deutlicher granuliert, und in ganz platten Zellen sieht man die Granula geradezu durchaus einzeln nebeneinander liegen. Sie erscheinen noch immer feinkörnig, aber doch deutlicher und klarer als in der ungequetschten Zelle, sie glänzen auch ein klein wenig mehr, niemals aber stark — kurzum die Zelle hat alle ihre Charaktere klarer zur Schau gestellt und ist nunmehr in allen ihren Teilen scharf charakterisiert. Bemerken möchte ich noch, daß bei längerem Liegen des Präparates die Zellen ganz unregelmäßig geformt sein können, und daß sie während der Beobachtung ihre

Gestalt sehr wesentlich zu verändern vermögen: Sie sind amöboide Gebilde und behalten diese Eigenschaft auch im ungeheizten Präparate einige Minuten hindurch, allerdings in herabgesetztem Maße, bei.

Nach ihren Eigenschaften hätte man also diese Zellen als polymorphkernige feingranulierte Leukozyten zu bezeichnen. Da wir wissen, daß diese feinen Granula bei Färbung mit Triazid einen „neutralen", rotvioletten Farbenton annehmen, sind wir gewohnt, diese Zellen auch im Nativpräparate als polymorphkernige (multinukleäre) neutrophile Leukozyten zu bezeichnen. Auch diese Zellen sind also im Nativpräparate mit einer jeden Irrtum ausschließenden Sicherheit zu erkennen: Denn es gibt keine andere feingranulierte Zellart im menschlichen Blute.

Neutrophile Myelozyten.

Unter pathologischen Verhältnissen gibt es im Blute feingranulierte, also neutrophile Zellen mit einem großen, einfachen, runden oder leicht nierenförmigen Kerne, welche sehr häufig (aber durchaus nicht immer!) an Gesamtgröße alle normalen Zellarten bedeutend übertreffen, indem sie 15 μ und mehr im Durchmesser haben. Auch sie sind, namentlich in plattgedrücktem Zustande, im Nativpräparate ungemein leicht zu erkennen. Der Kernkontur leuchtet durch die noch spärlich über dem Kerne lagernden Granula deutlich durch, so daß über die Einfachheit der Kernform kein Zweifel obwalten kann. Wir hätten diese Zellen als einkernige feingranulierte (neutrophile) Leukozyten zu bezeichnen. Gewöhnlich benennt man sie nach Ehrlichs Vorgange als neutrophile Myelozyten.

Eosinophile Zellen.

Die letzte im Nativpräparate scharf gekennzeichnete und absolut sicher erkennbare Zellform des normalen Blutes ist grobgranuliert, und ihre Granula treten nicht nur vermöge ihrer Größe, sondern auch wegen ihres besonders starken Lichtbrechungsvermögens, ihres Glanzes also, ganz außerordentlich scharf hervor. Die Zellen sind gemeiniglich, aber nicht immer, sichtlich größer als die feingranulierten, ihr Durchmesser mag im Mittel 12 μ betragen. Ihr ganzes Protoplasma ist erfüllt von einer groben und ungefähr gleichmäßig großen, runden oder ovalen Granulation von hohem Glanze, der bei leichter Drehung der Mikrometerschraube ein helles Aufleuchten der ganzen Zelle bedingt. In ihrem Inneren ist ein polymorpher Kern undeutlich sichtbar. Im

plattgedrückten Zustande werden die Granula noch viel deutlicher und schärfer; sie liegen dann einzeln nebeneinander, und namentlich in diesem Zustande ist eine solche Zelle für jeden, der sie nur einmal gesehen hat, unverkennbar. Der Kern erscheint oft etwas substanzreicher und plumper als jener der Neutrophilen. Die Granula dieser Zellen färben sich bei Behandlung mit sauren Farben ganz außerordentlich intensiv und leuchtend, man bezeichnet sie daher als oxyphil oder häufiger, weil das Eosin das hervorragendste und speziell diese Granula in besonders schöner Weise färbende Glied in der Reihe der sauren Anilinfarbstoffe darstellt, als eosinophil, die ganze Zelle ist also als polymorphkernige eosinophile Zelle zu benennen.

In pathologischen Fällen kommen auch einkernige, eosinophil granulierte Zellen vor, die sich, abgesehen von der Granulation, in gleicher Weise kennzeichnen wie die neutrophilen Myelozyten. Man bezeichnet sie auch in voller Analogie als eosinophile Myelozyten. In diesen Zellen ist auch infolge der Größe der Granula oft der Kernkontur nur sehr undeutlich zu sehen. Außerdem stimmen die Granula nicht immer ganz in ihrer Größe mit denen der normalen eosinophilen Zellen überein, sie sind häufig größer, manchmal auch sichtlich kleiner, oftmals finden sich kleinere und größere Granula in derselben Zelle.

Mastzellen. Es gibt außer den eosinophilen Zellen noch eine grobgranulierte Zellform im normalen und pathologischen Blute, die sogenannten Mastzellen. Diese kommen jedoch im Nativpräparate nicht in Betracht, zunächst weil sie im Blute mit Ausnahme der myeloiden Leukämie sehr selten sind, andererseits aber auch deswegen, weil ihre Granula fast genau dasselbe Lichtbrechungsvermögen besitzen wie das umgebende Protoplasma, so daß sie gar nicht hervortreten. Es gehört auch für den Geübtesten sehr viel Glück dazu, einmal eine solche Zelle mit Sicherheit im Nativpräparate agnoszieren zu können; der Mindererfahrene lasse sich ein solches Gelüste gar nicht ankommen. Eine Verwechslung mit eosinophilen Zellen ist, wie gesagt, völlig ausgeschlossen; man könnte sie viel eher für große einkernige Leukozyten, beziehungsweise für Übergangsformen halten.

Die Möglichkeit, die wichtigsten Leukozytenarten bereits im Nativpräparate mit voller Sicherheit zu differenzieren, hat immer

hin ihre praktische Bedeutung. Am höchsten möchte ich den Umstand anschlagen, daß die eosinophilen Zellen so unverkennbar und auffällig hervortreten. Man kann sie sogar mit schwacher Vergrößerung bereits ganz gut erkennen und kann sich daher bei Durchmusterung eines beträchtlichen Präparatteiles ein verläßliches Urteil über ihre annähernden Zahlenverhältnisse bilden, d. h. man wird sehen, ob die Eosinophilen wesentlich vermehrt oder spärlich vorhanden sind, oder ob es überhaupt nicht gelingt, irgendwelche zu finden. Ich erinnere Sie diesbezüglich an das, was ich über Leukozytendifferentialzählung bei Besprechung des Leukozytenzählpräparates gesagt habe. Dort konnten wir im Essigsäurepräparate die Eosinophilen nicht erkennen, und ich habe Sie zum Ersatz für diese Lücke damals sogleich auf das Nativpräparat verwiesen. Ersieht man aus dem Nativpräparate, daß eine bemerkenswerte Vermehrung der eosinophilen Zellen besteht, so wird uns das Veranlassung sein, auch ein Zählpräparat nach Zollikofer herzustellen, um auf diese Weise auch die Eosinophilen bequem und exakt in ihren absoluten und relativen Zahlenverhältnissen bestimmen zu können; ergibt sich bei Besichtigung des Nativpräparates bezüglich dieser Zellart nichts Auffälliges, so kann man sich in voller Ruhe mit dem Essigsäurepräparate begnügen.

Nekrobiose des Protoplasmas.

Ebenso wie die Erythrozyten gehen auch die Leukozyten bei längerem Liegen des Nativpräparates Veränderungen ein, welche ich kurz erwähnen muß, damit nicht Irrtümer entstehen. Sie sind wohl durchaus auf eine langsame Nekrobiose des Zellprotoplasmas zurückzuführen. Es bilden sich nämlich insbesondere in den neutrophilen Zellen vielfach kleinere und größere runde, homogene Klümpchen, welche schließlich fast den ganzen Zelleib ausfüllen können und sich durch matten Glanz auszeichnen. Die Eosinophilen sind mehr widerstandsfähig, in ihnen bilden sich derartige Produkte eines Zusammensinterns von absterbendem Protoplasma und Granulationssubstanz erst später. Auch an den Blutplättchen, insbesondere in Blutplättchenhaufen, lassen sich übrigens ähnliche Erscheinungen unter Auftreten sehr zarter rundlicher Konturen beobachten.

Wir gehen sonach zu einem weiteren Befunde über, welchen wir überhaupt nur im Nativpräparate zu beobachten in der Lage sind, zur

Fibrinbildung.

Das Fibrin ist das bei der Blutgerinnung entstehende Fällungsprodukt. Es stellt also einen Körper dar, der im Gegensatze zu allen bisher besprochenen Bildungen nicht im zirkulierenden Blute vorgebildet ist, sondern erst allmählich außerhalb der Gefäße entsteht, und zwar, wie wir oben gesehen haben, verschieden früh innerhalb der ersten Viertelstunde nach der Blutentnahme. Der Grad der Fibrinbildung hängt in erster Linie von der Mächtigkeit der zur Gerinnung gelangenden Blutschichte ab. Andererseits ist jedoch unter verschiedenen pathologischen Verhältnissen die Gerinnungsfähigkeit des Blutes eine beträchtlich wechselnde, teils erhöht, teils hochgradig herabgesetzt, so daß wir innerhalb derselben Schichtendicke beträchtliche Schwankungen in der Schnelligkeit und Massigkeit der Fibrinausscheidung werden zu erwarten haben.

Wir haben schon oben kurz auseinandergesetzt, daß die bisher in Verwendung gezogenen Methoden zur Bestimmung der Gerinnungszeit wenig verläßlich sind. Noch schlimmer steht es mit der Bestimmung der ausgeschiedenen Fibrinmenge. Da gibt es nur eine exakte Methode: Die gewichtsanalytische Bestimmung nach Defibrinierung einer größeren Blutmenge. Das ist aber eine Methode, welche der großen, zur Ausführung notwendigen Blutmenge halber klinisch nicht in Betracht kommt. Da uns eine „klinische" Methode mit Verwendung kleinerer Blutmengen sonst nicht zur Verfügung steht, müssen wir es als eine willkommene Ergänzung unserer mikroskopischen Blutuntersuchung betrachten, daß wir im Nativpräparate in der Lage sind, die Bildung einer mikroskopischen Crusta phlogistica im Verlaufe der Gerinnung beobachten und ihrer Mächtigkeit nach beurteilen zu können.

Art der Beobachtung.

Es ist das natürlich wieder nur eine auf persönlicher Erfahrung beruhende grobe Schätzung, aber sie genügt für unsere Zwecke, da uns nur sehr bedeutende Abweichungen vom normalen Verhalten von Belang erscheinen. Und solche Grade der Abweichung können wir auch im Mikroskope mit genügender Sicherheit feststellen.

Die Gerinnung erfolgt auch in dickeren Blutschichten erst im Verlaufe einiger Minuten und ist bis längstens zwölf Minuten

im allgemeinen vollendet. Wir werden daher diese Zeit auch abwarten müssen, ehe wir nach dem Nativpräparate ein abschließendes Urteil über die Fibrinbildung abgeben dürfen. Außerdem ist es geboten, für diese Untersuchung unter allen Umständen ein dickeres Präparat mit voll entwickelter Rollenbildung, beziehungsweise ein Präparat von jener Dicke zu wählen, bei welcher die Rollenbildung voll entwickelt sein könnte. Denn in dünneren Präparaten kommt es zunächst nur bei sehr hochgradiger Fibrinvermehrung überhaupt zu einer Ausscheidung von Faserstoff, an den ganz dünnen Stellen aber selbst unter diesen Verhältnissen nicht. Andererseits darf das Präparat auch nicht wesentlich dicker sein, als ich es zur Beurteilung der Rollenbildung empfohlen habe, weil in Schichten, wo die Rollen geballt liegen oder mehrere Rollen übereinander zu liegen vermögen, unter allen Umständen eine sehr starke Fibrinausscheidung eintritt, so stark, daß eine Abstufung nicht mehr möglich ist. Wir verwenden also dasselbe Präparat wie zur Beurteilung der Rollenbildung, nur lassen wir es zehn bis fünfzehn Minuten liegen, ehe wir es auf den Grad der Fibrinausscheidung hin untersuchen. Immerhin können wir schon früher durch wiederholte Besichtigung den Zeitpunkt des Beginnes der Fibrinbildung feststellen.

Form der Fibrinabscheidung.

Das Fibrin scheidet sich nun in mikroskopisch dünner Blutschichte in feinen Kristallnadeln aus, welche zunächst die Neigung haben, in etwas unregelmäßiger Stern-(oder Büschel-)anordnung aufzutreten, bei größerer Reichlichkeit sodann umschriebene und gut abgegrenzte größere Sterne von gitterartiger Innenstruktur bilden und schließlich ein diffuses, mehr oder weniger dichtmaschiges und verschieden dickfaseriges Netzwerk erzeugen, welches die freien Plasmaräume zwischen den Rollen der Erythrozyten vollkommen erfüllt. Recht bemerkenswert ist es, daß die ersten Anfänge der Fibrinbildung ganz regelmäßig mit den Blutplättchengruppen in inniger Verbindung stehen, in der Art, daß sich die ersten Strahlen eines Fibrinsternes fast stets an ein Blutplättchen oder eine Blutplättchengruppe ansetzen, so daß es direkt aussieht, als wäre das Blutplättchen „auskristallisiert". Auch in dem Gitterwerk der größeren Sterne und des diffusen Fibrinnetzes kann man gewöhnlich noch in vielen Knotenpunkten Blutplättchen erkennen. Ich will nicht weiter darüber räsonieren, welches die Bedeutung der Blutplättchen für die Fibrinbildung sei; so viel steht nach diesem Befunde fest, daß ein mindestens

äußerlicher Zusammenhang zwischen beiden besteht. Die früher wiedergegebenen Untersuchungen von Morawitz werfen ein neues Licht hierauf und lassen auch einen ursächlichen Zusammenhang annehmen.

Normaler Befund, Vermehrung, Verminderung.

Im normalen Blute nun bilden sich an Stellen von der oben beschriebenen Dicke im allgemeinen nur kleine Fibrinsterne, aber kein diffuses Netz. Sind großnetzig gezeichnete Sterne sehr zahlreich, so ist dies schon ein etwas auffälliger Befund, der bei allgemeiner Entwicklung im Präparate zu dem Ausspruche: „Fibrin reichlich" berechtigt. Ist ein sehr zartes diffuses Netz an einzelnen Stellen und sind daneben große Sterne an anderen nicht wesentlich in der Dicke verschiedenen Stellen vorhanden, so werde ich mich noch mit demselben nichts präjudizierenden Ausdrucke zufrieden geben. Erst wenn an nicht zu dicken Stellen ein diffuses, wenn auch zartes Netz überall zur Entwicklung gelangt, glaube ich, daß man berechtigt sei, von einer sicheren Vermehrung der Fibrinbildung zu sprechen. Ist dieses Netz auch an dünneren Stellen vorhanden und an den dickeren Stellen engmaschig und starkfaserig, so darf man wohl ohne Übertreibung eine starke Fibrinvermehrung annehmen, ein Vorkommnis, das z. B. bei fibrinöser Pneumonie und akutem Gelenkrheumatismus durchaus nicht selten ist.

Verminderung des Fibrins ist schwer zu erkennen. Ich fühle mich wenigstens nicht sicher, wenn nicht trotz der Mituntersuchung unerlaubt dicker Stellen alle Fibrinausscheidung ganz oder bis auf Spuren fehlt; denn es ist auch bei normalen Individuen die Fibrinentwicklung im mikroskopischen Präparate manchmal eine sehr mangelhafte. Ich werde mich also auch in solchen Fällen vorsichtigermaßen lieber der Ausdrücke: „Fibrinbildung spärlich" oder „auffallend spärlich" bedienen und nur in jenen ziemlich seltenen Fällen, wo ich mich ganz sicherstellen konnte, das Wort: „Fibrin vermindert" gebrauchen.

Parasiten im Blute.

Es sind nunmehr noch eine Reihe von Befunden größter pathologischer Wichtigkeit im Nativpräparate zu erheben: Die Anwesenheit von Parasiten mit Ausnahme der Bakterien im engeren Sinne, vor allem also die Anwesenheit von Malariaparasiten, Rekurrensspirillen, Trypanosomen und Filaria sanguinis. Ich halte es jedoch für vorteilhafter, diese Parasiten im

weiten Teile meiner Vorlesungen im Zusammenhange mit der speziellen Abhandlung der Infektionskrankheiten zu besprechen. Vir untersuchen auf alle diese Parasiten nach verschiedenen Mehoden auch in gefärbten Präparaten, und ich glaube, daß es der klaren Übersicht schädlich wäre, die verschiedenen Verfahren auch lurchaus getrennt voneinander abzuhandeln. Ich verweise also n dieser Hinsicht auf einen späteren Abschnitt unserer Vorlesungen.

---

7. Vorlesung.

(Bluttrockenpräparat: Herstellung, Fixation, Färbung.)

Das Nativpräparat hat uns eine ganze Reihe von Beobachtungen ermöglicht und uns einen wesentlichen Teil der normalen und pathologischen Histologie des Blutes bereits nahe gebracht. Aber es kann nicht für alle Zwecke genügen. Es stellt gewissermaßen nur ein Vorspiel dar für die eigentliche histologische Untersuchung; diese ermöglicht uns im vollen Umfange erst

das Bluttrockenpräparat.

Allgemeines. Dieses entspricht den gefärbten Schnittpräparaten der normalen und pathologischen Histologie. Das Verfahren ist nur vermöge der flüssigen Interzellularsubstanz des Blutes im allgemeinen ein anderes und einfacheres, obwohl ja schließlich, wie ich schon in der Einleitung zur Besprechung der histologischen Methoden hervorhob, auch das Blut in ähnlicher Weise eingebettet und geschnitten werden kann wie irgendein festes Organstück.

Wir breiten uns zur Herstellung eines Trockenpräparates das Blut in möglichst gleichmäßiger und dünner Schichte auf einem Deckgläschen oder einem Objektträger aus, lassen es hier zunächst lufttrocken werden, fixieren es dann gewöhnlich und lassen eine ein- oder mehrzeitige Färbung nachfolgen. Diese einzelnen Akte aber erfordern in jeder Hinsicht eine genaue und eingehende Besprechung und Beschreibung, da die Herstellung und Behandlung von Trockenpräparaten des Blutes eine technisch schwierige Sache ist, deren Gelingen von vielen kleinen Griffen und Erfahrungen abhängig ist. Und auf der anderen Seite ist ein gutes, ja tadelloses Präparat gerade für den Mindererfahrenen notwendig, damit er sich nicht schweren Irrtümern hingebe.

Die Bluthistologie ist ja vermöge der besonders günstigen Verhältnisse zur feinsten Detailmalerei vorgeschritten, die Unter-

scheidungen sind exakter und schärfer als in histologischen Schnitten; Zellformen, welche man im Schnitte ohne Skrupel untereinander wirft, weil man sie an der Hand der bisherigen Methoden beim besten Willen nicht zu scheiden vermag, kann man im Blute klar und deutlich differenzieren, und vielfach hat man durch Übertragung der in der Bluthistologie gemachten Erfahrungen auf Zellbilder histologischer Schnittpräparate speziell der blutbereitenden Organe erst die Bedeutung dieser letzteren zu ergründen vermocht.

Um gute Bluttrockenpräparate zu bekommen, braucht man ein sehr sorgfältig ausgewähltes und hergerichtetes Material, speziell an Deckgläsern, und diese müssen nicht nur von tadelloser Qualität, sondern auch von tadelloser Reinheit sein. Der größte Künstler im Streichen von Blutpräparaten wird sich vergeblich abmühen, wenn seine Deckgläser nicht den zu stellenden Anforderungen entsprechen.

Reinigung der Deckgläser.

Ich will also zunächst ein paar Worte über die Reinigung der Deckgläser sagen. Es kommt, wie schon früher einmal hervorgehoben wurde, auf zwei Dinge an: Auf Fett- und auf Staubfreiheit. Speziell die erstere Eigenschaft ist eine unerläßliche Bedingung und kann nur durch eine sorgfältige Vorbehandlung der Deckgläser erzielt werden. Aber diese braucht nicht kompliziert und langwierig zu sein, wie das von manchen Seiten im Übereifer angegeben wird. Ich halte es für durchaus unnütz, die Deckgläser in irgend einer Säure zu kochen und dann mit Alkohol, Äther, Xylol und womöglich noch mit einigen Säften zu behandeln. Wem das Vergnügen macht, der möge es immerhin tun; notwendig ist es nicht, und ich habe es niemals getan. Trotzdem bringe ich, ohne mir darauf etwas weiter einzubilden, ganz tadellose Präparate zustande.

Ich verfahre einfach in folgender Weise: Ein Päckchen Deckgläser wird in eine große Glasdose gebracht und mit einer Mischung von absolutem oder mindestens 95%igem Alkohol und Schwefeläther zu annähernd gleichen Teilen — ich schütte das willkürlich zusammen — übergossen. Man verschließt mittels eines möglichst luftdicht aufliegenden Deckels und läßt die Deckgläser in der Mischung stunden- oder tagelang liegen. Aus dieser Mischung werden sie am besten erst kurz vor dem Gebrauche unter Anwendung aller möglichen Vorsichtsmaßregeln herausgeputzt.

Erstens muß man dazu seine Hände frisch waschen, damit sie nicht das vollkommen fettfreie, ebenfalls frisch gewaschene Leinentuch, welches man zum Putzen verwendet, fett machen. Die Deckgläser selbst berührt man womöglich gar nicht mit der Hand, beziehungsweise man faßt sie höchstens an den gegenüberliegenden Kanten. Ihre Fläche darf mit den Fingern unter keinen Umständen mehr in Berührung kommen. Aus der Äther-Alkoholmischung werden die Deckgläser mit der schon früher gebrauchten und auch für die Herstellung der Trockenpräparate unentbehrlichen dünnbranchigen Deckglaspinzette genommen. Diejenige Seite des Tuches, welche zum Putzen der Gläser verwendet wird, soll mit den Händen überhaupt so wenig als möglich in Berührung kommen. Ist ein Deckglas geputzt, so wirft man es in eine reine Glasdose (z. B. Petrischale) nicht zu geringen Durchmessers, und schließt diese sofort wieder, um die Auflagerung von Stäubchen soviel als möglich zu verhindern.

Objektträger-Strichpräparate.

Verwendet man Objekträger zur Herstellung des Präparates, so müssen auch sie zunächst in Wasser und dann in Alkohol-Äther gebracht und beide Male mit fettfreiem Tuche gründlich getrocknet werden.

Die auf Objektträgern ausgestrichenen Präparate sind für die Behandlung später wesentlich weniger angenehm als Deckglaspräparate. Trotzdem will ich auch die Herstellung solcher Präparate besprechen, da sie einesteils leichter ist und andernteils trotz der unbequemen späteren Behandlung manchmal, wenn auch selten, doch den Vorzug verdient. Man geht bei der Herstellung eines Objektträger-Strichpräparates in folgender Weise vor: Ein Objektträger wird in der angegebenen Weise gereinigt und bereit gelegt. Dann faßt man ein ebenfalls wohlgereinigtes Deckglas mit tadellos ebenen und gerade verlaufenden Rändern derart mit der rechten Hand, daß die Finger nur das eine Ende der gegenüber liegenden (längeren) Kanten berühren; man verwendet nämlich auch hiezu am besten rechteckige Deckgläser. Dann berührt man mit der unteren Fläche des Deckglases, und zwar genau der Mitte der freien Querkante entsprechend, die Kuppe des frischen Bluttropfens und bringt diesen so an die Kante des Deckglases. Dieses wird nun auf den Objektträger unter einem Winkel von etwa 45° derart aufgesetzt, daß der Bluttropfen in dem spitzen Winkel zwischen Objektträger und

Deckglas zu liegen kommt. Sofort verteilt sich das Blut dem Deckglasrande entlang bis an dessen Enden, und sobald dies geschehen ist, zieht man in gleichbleibender Winkelstellung das Deckglas über den Objektträger in der Richtung des spitzen Winkels hinweg. Zwischen der unteren Deckglaskante und dem Objektträger breitet sich setzt das Blut in dünner und annähernd gleichmäßiger Schichte aus. Die Dicke des Präparates hängt von der Festigkeit des Aufsetzens ab, und diese im richtigen Grade abzustufen, ist Sache der Übung. An Stelle des Deckglases kann man auch einen Glasstab mit geschliffener Kante verwenden, welche in gleicher Weise wie die Deckglaskante mit dem Bluttropfen beschickt und über den Objektträger hinweggestreift wird.

Ich verwende diese Streichmethode auf dem Objektträger nur ausnahmsweise; die meines Erachtens weitaus vorzuziehende Präparationsmethode ist

das Deckglaspräparat.

Der Bluttropfen wird auf der unteren Fläche des einen Deckglases aufgefangen, und dieses läßt man dann auf ein zweites, bereit gehaltenes Deckglas derartig fallen, daß beide Gläschen einander größtenteils decken. Hiebei breitet sich der Tropfen in dem kapillaren Raume zwischen beiden Gläschen unter günstigen Verhältnissen fast vollkommen gleichmäßig aus. Sodann hebt man die Gläschen empor, nimmt sie an den freien Rändern zwischen die Finger beider Hände und zieht mit raschem Rucke beide Deckgläser in vollständig horizontaler Richtung voneinander ab. Dadurch wird die Blutschichte in zwei Teile getrennt, und man hat zwei dünne Blutpräparate fertig. Durch kurzes Schwenken der beiden Gläschen beschleunigt man die Eintrocknung der dünnen Blutschichte und überläßt hierauf das so gewonnene Präparatenpaar der weiteren Lufttrocknung. Jedenfalls soll man zwei oder mehrere Paare von Präparaten herstellen, da immer das eine oder andere Paar mißlingt. Die gründlich lufttrockenen Präparate kann man dann paarweise derart in Filtrierpapierblättchen einschlagen, daß je ein Paar, welches e i n e m und demselben Tropfen entstammt, auch beisammen bleibt.

Streichmethode.

Um gute Präparate zu erhalten, muß man beim Streichen auf eine ganze Reihe von kleinlich erscheinenden Punkten achten.

Größe, Form und Dicke der Deckgläser.

Zunächst ist die Wahl der Deckglasgröße und Deckglasdicke von hoher Bedeutung. Aus denselben Gründen, welche ich schon bei Besprechung des Nativpräparates geltend gemacht habe, soll das Deckglas weder zu dünn, noch zu dick sein. Die Marke b mit einer Dicke von 0,13—0,17 mm trifft eben das Richtige. Sehr von Belang scheint mir die Form der Deckgläser zu sein, und zwar in doppelter Hinsicht: Erstens wegen der glatten Ausbreitung des Tropfens zwischen den Gläsern, und zweitens wegen der doch immerhin etwas wechselnden Tropfengröße.

Der erste Punkt bezieht sich darauf, daß eine zu große Breite des Deckglases die gleichmäßige Verteilung des Tropfens zwischen den Gläsern erschwert. Ist das Blut sehr hydrämisch, so schadet auch größere Breite nicht viel, weil solches Blut augenblicklich auseinander schießt, sowie der leiseste Druck des oberen Deckglases auf dem Tropfen lastet. Ist aber das Blut dickflüssig, wie normal, so geht naturgemäß die Ausbreitung des Tropfens langsam vor sich, und je breiter das Deckglas ist, desto größer ist die Gefahr, daß sich die Seitenränder der beiden Gläschen fest aneinander legen, ehe sich der Tropfen überallhin verbreitet hat. Dort entstehen dann Newtonsche Farbenringe, es dringt höchstens noch etwas Plasma in den feinen Kapillarraum, und in den mittleren Teilen ist eine unbrauchbar dicke Blutschichte beisammen geblieben. Will man dann die Deckgläser voneinander abziehen, so stößt auch das auf Hindernisse: an den Rändern ist die Adhäsion zwischen den beiden Gläsern eine so innige geworden, daß man große Kraft anwenden muß, um die Gläschen überhaupt auseinanderzubringen; dabei zieht man leicht ruckweise, macht also Stufen ins Präparat, oder man kippt, indem man bei der ungewöhnlichen Kraftanwendung die eine Hand aus der Horizontalen bringt; infolgedessen ganz ungleichmäßige Auflagerung der Blutschichte auf beiden Gläsern, mit einem Worte, unbrauchbare Präparate. Eine Deckglasbreite von 18 mm bis höchstens 21 mm scheint mir mit Rücksicht hierauf die geeignetste zu sein. Sind die Deckgläser etwas dünner als empfohlen, oder ist das zu untersuchende Blut auffällig viskös, so tut man gut, die Deckgläser nicht in ihrer ganzen Breite zu überdecken, sondern auf der einen Seite einen 2—3 mm breiten Streifen freizulassen; so kann man die Präparate vielleicht noch retten.

Was den zweiten Punkt betrifft, so ist es beim besten Willen und bei der größten Übung doch nicht möglich, immer ganz gleich große Tröpfchen auf das Deckglas zu bringen. Hätte ich nun ein kleines Deckglas vor mir, so könnte ich mit einem etwas größer ausgefallenen Tropfen kein Präparat von der richtigen Dicke mehr bekommen; ich müßte das Deckglas wegwerfen oder mich mit einem zu dicken Präparate abärgern. Es wird also wünschenswert sein, so große Deckgläser zur Verfügung zu haben, daß man, je nach der Größe des eben erhaltenen Tropfens, die Größe des Präparates innerhalb gewisser Grenzen beliebig ändern kann, um jedesmal ein Präparat von der gewünschten Dicke zu bekommen. Das ist der Hauptgrund, warum ich größere längliche Deckgläser unbedingt den kleinen quadratischen vorziehe. Das ideale Format für dickflüssiges, also annähernd normales Blut ist meines Erachtens das von 18 × 27 mm; für dünneres Blut kann man mit gleich gutem Erfolge auch 21 × 26 mm verwenden.

Bei Gebrauch solcher Deckgläser kann ich mich innerhalb genügend weiter Grenzen frei bewegen. Bekomme ich nur ein kleines Tröpfchen mehr aus der Stichwunde, so werde ich gleich die Beschickung des ersten Deckglases an einer ganz anderen Stelle vornehmen, als wenn mir rasch ein großer Tropfen hervorquillt. Ich werde im letzteren Falle den Tropfen mitten auf dem Deckglase auffangen, im ersteren Falle näher dem freien Rande und vielleicht sogar auch näher der einen Längskante. Ebenso werde ich es mit dem Überdecken des bereitgehaltenen zweiten Deckglases halten: Bei großen Tropfen überdecke ich bis auf einen etwa 2—3 mm breiten Saum das ganze Deckglas, bei kleinen Tropfen überdecke ich die Hälfte, ein Drittel, ein Viertel der Deckglasfläche, und so kann ich bei genügender Sorgfalt mit verschieden großen Tropfen zwar verschieden große, aber immer brauchbare und sogar gute Präparate erzielen. Man muß ja auch die Ränder der Deckgläser nicht parallel zueinander stellen, sondern man kann schräg überdecken; ich tue das allerdings nur dann mit einer gewissen Vorliebe, wenn ich ein besonders kleines Tröpfchen bekommen habe.

Handgriffe beim Streichen der Präparate.

Niemals klemme ich, wie das zumeist in den Büchern empfohlen steht, das bereit gelegte Deckglas mit der einen Schmalseite in eine Cornetsche Klemmpinzette ein; das erschwert und verzögert die Arbeit. Ich lege dieses Deckglas vielmehr

immer auf ein glattes Blatt Schreibpapier, wobei ich mich noch einmal überzeuge, daß sich ja nicht ein Stäubchen auf der Oberfläche befinde. Ist eines vorhanden, so wird das Deckglas „abgeblasen“ und, wenn das nicht den gewünschten Erfolg hat, mit einem reinen Tuch noch einmal trocken abgewischt; ebenso das zweite Deckglas. Dieses zweite Deckglas wird zunächst mit der Deckglaspinzette gefaßt, nicht mit der Hand; ist die Ausbreitung des Tropfens zwischen beiden Gläschen erfolgt, so hebe ich das Paar mittels der dünnbranchigen Pinzette an dem freien Rande des oberen Deckglases empor, erfasse den unbedeckten Rand des unteren Deckglases mit der linken Hand, lege dann die Pinzette weg, fasse das obere Deckglas mit der rechten Hand und ziehe nunmehr ab. Das Ganze muß rasch geschehen. Ich halte das Abziehen mit Pinzetten für durchaus unzuverlässig und kann es niemandem empfehlen.

Dicke des Präparates.

Ein gutes Präparat soll mit Ausnahme der stets unbrauchbaren Ränder möglichst gleichmäßig dick sein, und zwar so dick, daß die roten Blutkörperchen durchwegs oder fast ausschließlich auf ihrer Breitseite einzeln nebeneinander liegen, ohne selbst im mindesten gequetscht zu sein. Sie müssen also durchwegs ihre Delle tadellos erhalten haben.

Die Leukozyten sind unter solchen Verhältnissen beträchtlich plattgedrückt; sie erscheinen um ein Nennenswertes größer als ihrem wirklichen Durchmesser bei Kugelform entspricht, haben jedoch nur selten weitere Veränderungen erlitten. In manchen Fällen allerdings, wo entweder zu große oder zu viele oder zu leicht zerreißbare Leukozyten vorhanden sind, wird es sich empfehlen, absichtlich dickere Präparate zu machen, um nicht einen großen Teil der Zellen, welche dann gern an dem einen Deckglase haften bleiben, beim Abziehen der Gläschen zu zerreißen. Man verzichtet dann von vorneherein den Leukozyten zuliebe auf eine schöne Nebeneinanderausbreitung der Erythrozyten. Dies trifft also sowohl für die myeloide wie für die lymphoide Leukämie zu, für die letztere trotz der verhältnismäßigen Kleinheit der Zellen deshalb, weil die pathologischen Lymphozyten oft eine ganz enorme Zerreißlichkeit zeigen, so daß man in normal dicken Präparaten manchmal mehr Zelltrümmer als erhaltene Zellen zu Gesichte bekommen könnte. Diese letztgenannten Fälle sind es auch, bei denen ich manchmal die Streichung auf dem Objekt-

träger als das für die besonders leicht zerreißlichen Leukozyten schonendere Verfahren bevorzuge.

Lufttrocknung. Auf das rasche Trocknen der noch feuchten Präparate hat man besonders bei Untersuchung von anämischen Blutsorten zu achten. Man schwenkt die Präparate unmittelbar nach dem Abziehen am besten durch einige Sekunden, die bestrichene Seite nach unten, kräftig in der Luft auf und ab. Erfolgt die Trocknung zu langsam, so kommt es namentlich bei anämischem Blute sehr leicht zu Schrumpfung oder aber zu Hämoglobinaustritt aus den Erythrozyten ins Plasma, und das gibt dann garstige Bilder. Auch nach erfolgter Eintrocknung empfiehlt es sich, die Präparate noch einige Zeit an der Luft weiter trocknen zu lassen. Man läßt sie unter einer Glasglocke, vor Staub und vor Fliegen, welche das Blut sehr gerne absaugen, geschützt liegen oder bewahrt sie für einige Zeit in haarlosem Filtrierpapier auf. Wenn man sogleich fixiert und färbt, muß man auf minder schöne Bilder infolge der zu raschen Wasserabgabe und mancher damit verbundenen Schrumpfungsvorgänge gefaßt sein. Am besten färben sich die Präparate im allgemeinen, wenn sie vor der Fixation wenigstens einige Stunden und höchstens mehrere Tage bis zu einer Woche gelegen sind. Noch später geben viele Farblösungen unschöne Bilder und namentlich Plasmafärbung. Auch in fixiertem Zustande soll man die Präparate nicht zu lange liegen lassen. Sind die Präparate längere Zeit an der Luft gelegen, so braucht dann im allgemeinen die eigentliche Fixation nur geringer zu sein, weil die Lufttrocknung allein schon in fixierendem Sinne wirkt.

Nur für einzelne Untersuchungen, z. B. die später zu erwähnende Untersuchung auf jodophile Eigenschaften der Leukozyten, werden die Trockenpräparate in unfixiertem Zustande weiter verarbeitet. Sonst folgt der Streichung als zweiter Akt regelmäßig

die Fixation.

Für Bluttrockenpräparate sind zwei Arten der Fixation in Gebrauch: die chemische und die thermische Fixation.

Chemische Fixation. Als Fixationsmittel für erstere Methode sind in Verwendung: Absoluter Alkohol, Alkohol-Äthergemisch zu gleichen Teilen, Formol in alkoholischer Lösung und Methylalkohol. Andere Fixationsmittel, wie Sublimat, Osmiumsäure, Pikrinsäure, Müllersche

Flüssigkeit werden nicht gewöhnlich und nicht in der Klinik, sondern nur für ganz bestimmte wissenschaftliche Zwecke oder aber versuchsweise als Zusatz zu den erstangeführten Fixationsmitteln verwendet.

a) mittels Alkohol, Zur Alkoholfixation verwendet man ausschließlich absoluten Alkohol, den man sich in der bereits oben einmal beschriebenen Weise durch Zusatz von gebranntem Kupfersulfat zu dem höchstkonzentrierten käuflichen Alkohol selbst herstellt. Man läßt den Alkohol in einer Glasdose mit gut schließendem Deckel eine Viertelstunde bis eine Stunde auf das lufttrockene Präparat einwirken. Die Dauer der Fixation hängt davon ab, womit das Präparat später behandelt werden soll. Färbt man in einer alkoholischen Farblösung, so genügt eine kürzere Fixation, auch nur fünf Minuten; wird eine rein oder überwiegend wässerige oder gar eine alkalische Lösung verwendet, so muß lange fixiert werden. Nach erfolgter Fixation läßt man zumeist den Alkohol einfach an der Luft verdunsten; man kann jedoch auch in Wasser abspülen und zwischen glattem, haarlosem Filtrierpapier trocknen. Kommen alkoholische Farblösungen zur Verwendung, so kann man auch die feuchten Präparate direkt aus dem Alkohol in die Farblösung bringen.

b) mit Alkohol-Äther, In der gleichen Weise, jedoch mindestens eine halbe Stunde lang, wird ein Gemisch von absolutem Alkohol und reinem Schwefeläther zu gleichen Teilen verwendet; nach der Fixation ebenfalls verdunsten lassen oder abspülen und trocknen. Ich meine, daß diese Fixationsart vor der mittels Alkohol allein gar keinen Vorteil bietet. Von mancher Seite wird eine sehr kurze Alkohol-Ätherfixation empfohlen: Man tropft auf das Deckglas etwas von der Mischung und läßt sie verdunsten. Sobald dies geschehen, ist die Fixation vollendet. Speziell ist dieser Modus wiederholt bei Färbungen auf Malariaparasiten verwendet worden.

c) mit Formalin, Vielfach wird seit neuerer Zeit auch Formalin (Formol) in Verwendung gezogen. Das Formalin ist eine 40%ige wässerige Lösung von Formaldehyd. Man verwendet es nicht konzentriert, sondern in stark verdünnter alkoholischer Lösung. Um aber stets eine gleiche Konzentration zu besitzen, ist es nicht rätlich, die alkoholische Lösung aufzubewahren. Man geht am besten in folgender Weise vor. Vorrätig gehalten wird eine 10%ige wässerige Formalinlösung. Von dieser wird dann unmittelbar vor dem Ge-

brauch 1 Teil mit 9 Teilen absoluten Alkohols gemischt. Man hat hiedurch schließlich eine 1%ige Formollösung in 90%igem Alkohol in Verwendung. Nur dann, wenn man sehr viel von dieser Lösung verwendet, kann man sich ein wohl verschlossenes Fläschchen von direkt 1%iger Formollösung in 95—100%igem Alkohol herstellen; eine kurze Zeit läßt sich auch diese Lösung, ohne Schaden zu nehmen, aufbewahren. Das Formalin hat den großen Vorzug vor dem Alkohol allein, daß es schon in drei bis fünf Minuten eine genügende Fixation erzeugt.

Von mancher Seite wird die Formolfixation auch in der Weise vorgenommen, daß man das Präparat für ebensolange Zeit in ein Gefäß gibt, auf dessen Boden konzentriertes Formol sich befindet. Die Fixation wird durch die entweichenden Dämpfe von Formaldehyd bewirkt.

Alle diese Methoden sind brauchbar, ich verwende sie aber alle zusammen seit zwei bis drei Jahren nicht mehr. Seit dieser Zeit hat sich nämlich der Methylalkohol ausschließlich meine Gunst erworben, und ich kann Ihnen die Anwendung desselben überall dort, wo eine chemische Fixation überhaupt am Platze ist, am meisten und wärmsten empfehlen. Er wird rein und unverdünnt angewendet und fixiert in drei, allerlängstens fünf Minuten in ganz vorzüglicher Weise — meines Erachtens mindestens ebenso gut wie absoluter Alkohol in einer halben Stunde. Es schadet jedoch auch gar nicht, wenn man ihn länger, selbst stundenlang einwirken läßt; die Abgrenzung der Zellen wird sogar noch eine schärfere. d) mit Methylalkohol.

Zusatz von wenigen Tropfen alkoholischer Sublimatlösung zu alsolutem Alkohol oder zum Alkohol-Äthergemisch oder zum Methylalkohol scheint keinen wesentlichen Vorteil zu bieten. Wenn man etwas zuviel Sublimat zusetzt, färben sich vielmehr die Erythrozyten bereits schlechter.

Die chemische Fixation ist durchaus nicht für alle Färbemethoden gleich gut brauchbar. Sehr gute Resultate gibt sie für Färbung mit Eosin-Methylenblau oder Eosin-Hämatoxylin oder die verschiedenen Modifikationen der Methode nach Romanowsky; mangelhafte Bilder kommen fast immer bei Triazidfärbung zustande.

Für die Anwendung dieses Farbstoffes und für einige spezielle Färbungen ist noch immer die von Ehrlich eingeführte Hitzefixation nicht gut zu umgehen. Sie stellt die heikelste Ehrlichs Hitzefixation

Art der Fixation dar und muß mit beträchtlicher Sorgfalt durchgeführt werden. Ihr Prinzip besteht darin, daß man die lufttrockenen Präparate einer Temperatur von 110 bis höchstens 150° C sehr verschieden lange Zeit, eben je nach der Höhe des erreichten Temperaturmaximums, aussetzt. Niedrige Hitzegrade müssen lange einwirken, den höchsten angeführten Temperaturen aber dürfen die Präparate nur Augenblicke lang ausgesetzt sein, wenn sie nicht „verbrannt" werden sollen.

a) auf der Kupferplatte,

Ehrlich hat zur Vornahme der Hitzefixation ursprünglich eine Kupferplatte empfohlen, die etwa in folgender Weise anzuwenden wäre: Eine 3 mm dicke, 30 cm lange und 5—10 cm breite Kupferplatte ist an einem vertikalen Stativ verschieblich angebracht. Unter ihrem freien Ende befindet sich ein Alkohol- oder Bunsenbrenner. Man erwärmt die Platte bei kleiner Flamme. Nach einiger Zeit ist eine annähernd konstante Temperatur der Platte eingetreten, am höchsten unmittelbar über der Flamme, am niedrigsten nahe dem Stativ. Die in den verschiedenen Teilen der Platte bestehenden Temperaturen kann man sich dadurch bestimmen, daß man Flüssigkeiten von verschiedenen Siedepunkten auftropft und sich den Punkt, wo diese Flüssigkeiten ruhig zu kochen beginnen, feststellt. So kann man den Punkt 100° C durch Auftropfen von Wasser, 110° durch Toluol, 139° durch Xylol und 150° durch Terpentinöl bestimmen, und kann dann sein Präparat oder mehrere Präparate der gewünschten Temperatur durch verschieden lange Zeit aussetzen.

Eine genaue Vorschrift für die Fixation auf der Kupferplatte gibt Rubinstein: Er bestimmt durch Auftropfen von Wasser jene Stelle, wo der Wassertropfen nicht mehr siedet, sondern in den sphäroidalen Zustand tritt und auf der Platte umherrollt. Diese Stelle wird auf der Platte markiert, und man legt das Blutpräparat mit der bestrichenen Seite nach unten derart auf die Platte, daß die eine Kante die Marke etwas nach der kälteren Seite zu überschreitet. So bleibt das Präparat $^1/_2$—$^3/_4$ Minuten und ist für Triazidfärbung tadellos fixiert. Pappenheim fixiert ebenso, nur wendet er die Präparatseite nach oben.

b) mit dem Toluolkocher,

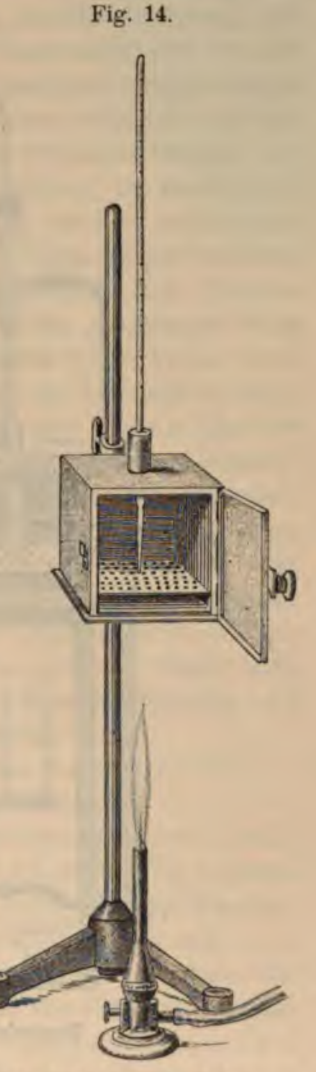
Nach der Kupferplatte haben Ehrlich und Lazarus den Toluolkocher von Viktor Meyer empfohlen, einen kleinen Metallkessel mit Siederohr und Kupferdeckel, auf welch letzteren die Präparate gelegt werden. Durch Eingießen von Toluol und Erwärmen desselben bis zum Sieden (110°) wird in kurzer

Zeit auf der Kupferplatte eine konstante Temperatur von 107 bis 110° hergestellt, welcher die Präparate ausgesetzt werden.

c) im Brutkästchen.

Ich selbst fixiere nach keiner dieser Methoden, sondern ausschließlich in kupfernen Brutkästchen. Ein solcher Apparat ist ungemein einfach und kann für Fixation bei jeder beliebigen Temperatur verwendet werden. Ein kubisches Kupferkästchen, auf einem Stativ in der Vertikalen verschiebbar, ist vorne mit einem Türchen versehen und trägt oben eine Öffnung, in welche mittels eines Korkes ein bis 200° C zeigender Thermometer eingelassen ist. (Siehe nebenstehende Abbildung.) Im Innern findet sich etwa 2—3 cm oberhalb des Bodens ein zweiter Boden aus durchlochtem Kupferblech, auf welchem die Präparate untergebracht werden. Der Apparat wird durch eine Bunsenflamme erhitzt.

Fig. 14.



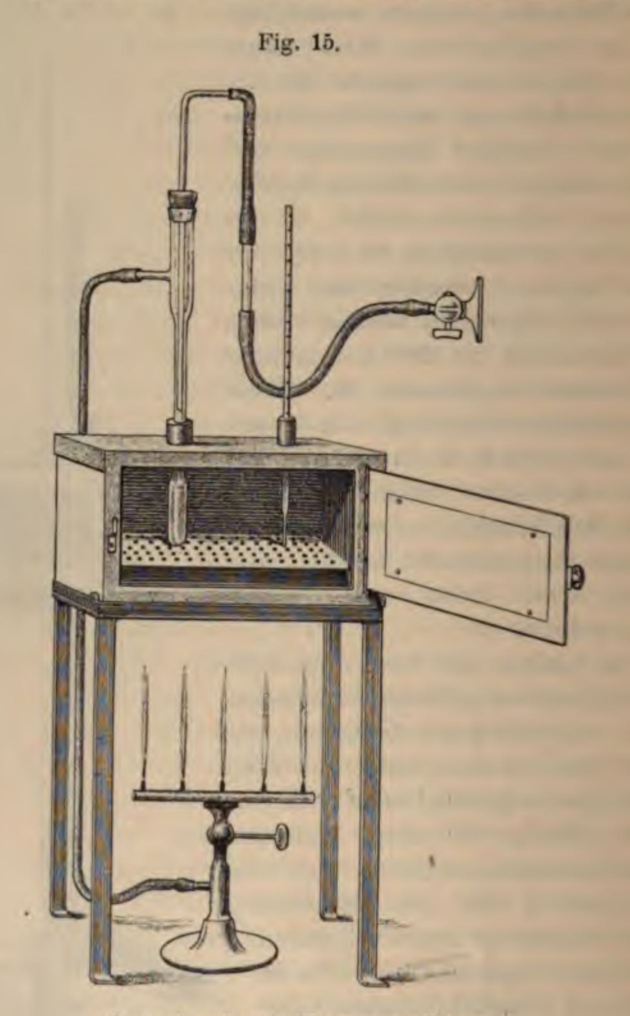
Einfaches Brutkästchen zur Hitzefixation.

Ich besitze auf der Klinik auch noch einen etwas größeren Brutkasten, den ich mir außen mit Ausnahme des Bodens durch Asbestplatten schützen ließ, und der in seinem Dache noch eine zweite Öffnung für einen einfachen Quecksilberthermoregulator trägt. (Abbildung auf S. 190). Die Erwärmung erfolgt wegen der beträchtlicheren Länge des Apparates durch eine Reihe von Gasstichflammen. Der Apparat hat den einen Vorzug, daß man mittels des Thermoregulators dafür sorgen kann, daß eine gewisse Temperatur nicht wesentlich überschritten werde. Man ist also nicht gezwungen, bei der Fixation dauernd selbst anwesend zu sein. Durch verschiedene Tiefstellung des inneren Glasrohres im Thermo-

regulator kann man das Temperaturmaximum innerhalb gewisser Grenzen verändern.

Ich empfehle Ihnen nun bei der Hitzefixation mittels der

Fig. 15.



Brutschrank mit Thermoregulator.

eben beschriebenen kupfernen Brutkästchen in folgender Weise vorzugehen:

Auf den durchlochten Doppelboden des Kästchens stelle ich ein flaches Uhrschälchen aus möglichst dünnem Glase; auf diesem steht der Quecksilberträger des Thermometers auf. Die Präpa-

rate werden in den kalten Apparat derart eingebracht, daß sie mit der bestrichenen Seite nach unten im Uhrschälchen mit der einen Kante unmittelbar dem Thermometer anliegen. Erst jetzt erwärmt man mit kleiner Flamme ganz allmählich derart, daß nach sechs bis zehn Minuten erst eine Temperatur von 75—80° erreicht ist. Es hat das den Zweck, nicht genügend ausgetrocknete Präparate vor dem Entstehen von Schrumpfung infolge zu rascher Wasserverdunstung zu schützen. Sind die Präparate längere Zeit an der Luft gelegen, so kann man von Anfang an rascher erhitzen. Jedenfalls erwärmt man von 80° an rascher, muß jedoch dafür sorgen, daß später, sobald man in die Nähe der gewünschten Maximaltemperatur kommt, die Quecksilbersäule des Thermometers nur mehr ganz langsam ansteige. Ist die gewünschte Höhe erreicht, so macht man die Flamme entweder etwas kleiner oder nimmt den Brenner einen Augenblick weg; die Temperatur steigt vielleicht noch um 1—2° an, dann bleibt sie eine Weile in gleicher Höhe, dann beginnt die Quecksilbersäule sich wieder zu senken; jetzt muß man bereits wieder die Flamme größer machen oder, wenn man sie weggenommen hatte, sie wieder untersetzen, um ein zu tiefes Sinken zu verhüten. Auf diese Weise kann man die Temperatur durch fünfzehn Minuten und länger mit geringen Schwankungen, die ohne Belang für den Erfolg sind, in der unmittelbaren Nähe eines bestimmten Grades erhalten. Glaubt man genug erwärmt zu haben, so wird die Flamme abgestellt und man läßt die Präparate im Kästchen erkalten.

Grad der Erhitzung.

Die zu wählende Höhe und Dauer der Fixation richtet sich ausschließlich nach der vorzunehmenden Färbung.

Für manche Färbungen, z. B. Eosin-Methylenblau oder Eosin-Hämatoxylin, genügt eine niedrige Fixation. Ich verstehe darunter ein Erwärmen auf 115—120° durch wenige Minuten. Man läßt z. B. das Quecksilber bis auf 120° steigen und stellt die Flamme ab. Für andere Färbungen, und zwar gerade für diejenige, welcher zuliebe man ja eigentlich die Hitzefixation fast ausschließlich anwendet, nämlich für die Färbung mit dem Ehrlichschen Triazid, ist aber meiner Erfahrung nach eine hohe Fixation erforderlich. Diese kann man auf doppelte Weise erzielen. Entweder dadurch, daß man auf 120—125° durch etwa eine halbe bis eine Stunde, im Mittel drei Viertelstunden erwärmt; dann bedient man sich mit Vorteil des mit dem Thermoregulator versehenen Brutkastens. Oder dadurch, daß man eine

Temperatur von 135° im Mittel durch zehn bis fünfzehn Minuten einwirken läßt. Man sehe nur darauf, daß 140° nicht überschritten werden; wenn ja, so muß man früher unterbrechen. Überhaupt sind Temperaturen, die wesentlich über 135° hinauf gehen, bereits etwas gefährlich. Die Präparate „verbrennen" gerne bei ihrer Einwirkung und färben sich dann unter allen Umständen schlecht.

Damit soll nicht gesagt sein, daß man bei Einwirkung so hoher Temperaturen nicht manchmal geradezu prächtige Präparate bekommt. Ich verwende sogar, wenn ich eile, und in letzter Zeit überhaupt mit besonderer Vorliebe noch eine letzte Methode, welche gerade auf der Einwirkung so hoher Temperaturen beruht. Diese Art bezeichne ich aber schon als „wilde" Fixation. Ich lasse den Thermometer rasch auf 148—150° ansteigen, entferne die Flamme und lasse im Kästchen bis auf etwa 130° abkühlen. Dann werden die Präparate entfernt und gefärbt. Sollte die Temperatur über 150° emporgehen, so müssen die Präparate augenblicklich aus dem Kästchen heraus, sonst sind sie sicher verloren. Wie gesagt, gewöhnlich bekommt man auch bei dieser „wilden" Fixation sehr schöne Präparate, boshafterweise sogar nicht selten viel schönere als dann, wenn man sich lange mit sorgfältiger Abstufung der Temperaturen geplagt hat.

Cabot sowohl wie Engel empfehlen für schnelleres Arbeiten die Fixation mittels Durchziehen durch die Flamme eines Bunsen- oder Spiritusbrenners, beziehungsweise Erwärmen über der Flamme und mehrmaliges flüchtiges Herabsenken auf diese. Es ist gewiß möglich, auf diese Weise erträgliche Präparate, welche eine annähernde Übersicht gestatten, zu bekommen; daß man ein gutes Präparat erhält, wird wohl nur ein glücklicher Zufall sein. Eine genaue Vorschrift über Schnelligkeit und Häufigkeit des Durchziehens läßt sich wohl nicht geben; man muß das durch Übung herausbekommen; jedenfalls soll der Farbenton des Präparates nur schwach gelb-bräunlich, nicht aber dunkelbraun sein.

Aber ich kann Ihnen für rasches Arbeiten viel mehr die oben beschriebene „wilde" Fixation empfehlen.

Ehrlich und Lazarus sagen, daß für gewöhnliche Färbungen mit wässerigen Lösungen eine Fixation durch eine halbe bis zwei Minuten auf 110° genügend sei. Für die Triazidlösungen, die mir zur Verfügung stehen, ist unbedingt eine hohe Fixation in der angegebenen Weise erforderlich, um brauchbare und gut differenzierte Präparate zu erhalten. Und ich muß besonders be-

tonen, daß das Gelingen der Färbung immer und immer in allererster Linie von der richtigen Fixation abhängig ist.

Die Färbung.

Den dritten Akt in der Behandlung der Bluttrockenpräparate bildet die Färbung.

Lassen Sie mich, ehe ich auf die spezielle Färbung der Blutpräparate übergehe, nur einige wenige zusammenfassende Worte über die theoretischen Grundlagen der histologischen Färberei vorausschicken, welche vielleicht zum Verständnisse der hiebei zu beobachtenden Erscheinungen einiges beizutragen vermögen.

Allgemeines über Farbstoffe und Färbung.

Trotz vielen Streites ist auch heute die erste grundlegende Frage in der histologischen Färberei, ob die Färbung der Gewebe ein chemischer oder physikalischer Vorgang sei, noch nicht endgültig und sicher gelöst. Eines scheint jedoch sicher zu sein. Physikalische Gesetze vermögen nicht alle Vorkommnisse der gegenseitigen Wirkungen von Farbstoff und Gewebselementen zu erklären, selbst wenn man, wie das jetzt des öfteren geschieht, die Errungenschaften der physikalischen Chemie, die Gesetze der Osmose und der Dissoziation zu Hilfe nimmt. Am besten wird es wohl gelingen, alle Erscheinungen zu erklären, wenn man die Möglichkeit verschiedenartiger Einwirkung von Farbstoffen und Gewebselementen aufeinander zugibt und von vorneherein damit rechnet, daß nicht ein einheitliches Schema für die verschiedenen Färbungen gilt. Es handelt sich bei den in Betracht kommenden Stoffen beider Komponenten, der färbenden und der zu färbenden, zumeist um höchst kompliziert zusammengesetzte organische Körper. Die eine Reihe von ihnen, die verschiedenen Arten und Verbindungen der Eiweißkörper sind in ihrer feineren Konstitution noch gar nicht genügend bekannt, und sollen gerade durch die mikrochemische Farbenreaktion erst besser differenziert werden. Wir werden daher noch lange gezwungen sein, uns mit mehr minder klaren oder unklaren spekulativen Vorstellungen über das Fehlen exakter chemischer oder physikalischer Formeln hinwegzuhelfen.

Bei alledem scheint doch für die meisten Färbungen ein gewisses Übergewicht chemischer Vorgänge gesichert zu sein. Sonst fiele es wohl schwer,

die konstante und gleichmäßig elektive Färbung gewisser Zellteile ausschließlich mit Farbstoffen gewisser gleichartiger chemischer Natur unter den verschiedensten Verhältnissen zu erklären. So verbindet sich z. B. das Chromatin der Kernsubstanz, das im wesentlichen aus Nukleinsäure besteht, immer nur mit basischen Farben, selbst dann, wenn als Färbemittel nur eine neutrale Verbindung eines sauren und eines basischen Farbstoffes verwendet wurde. Man wird also direkt darauf hingewiesen, daß durch das Gewebe eine Spaltung des neutralen Farbstoffes in seine Komponenten stattfinden dürfte. Und selbst wenn man annähme, daß in diesen Lösungen von vorneherein ein Teil des Farbstoffes sich im Zustande der Dissoziation befunden hätte — warum diffundiert in das Chromatin nur basischer, in den Kernsaft nur saurer Farbstoff?

Unter diesen Umständen kommt wohl der Farbenchemie für das Verständnis der Gewebsfärbungen die ausschlaggebende Bedeutung zu. Wir wollen uns nur die gröbsten Grundbegriffe dieses komplizierten Baues vor Augen führen.

Die genau chemisch definierten Farbstoffe, welche für unsere Zwecke in Betracht kommen, gehören durchaus der aromatischen Reihe an, stellen also mehr minder komplizierte Benzolderivate dar und werden durch Einwirkung verschiedenartigster chemischer Reagentien auf die Produkte der fraktionierten Destillation des Steinkohlenteers gewonnen. Sie werden unter dem Namen der Anilinfarbstoffe zusammengefaßt.

Ein Farbstoff muß nicht nur selbst durch den Besitz einer chromophoren Atomgruppe gefärbt sein, sondern er muß auch eine oder mehrere Atomgruppen besitzen, welche geeignet sind, sich mit verwandten Atomgruppen der zu färbenden Gewebe zu verbinden und auf diese Weise eine Verankerung des Farbstoffes an das Gewebe herbeizuführen. Ohne diese haptophoren Radikale ist der Körper ein indifferentes Chromogen, durch ihre Anwesenheit wird er zum aktiven Farbstoff. Durch die chromophore Atomgruppe einerseits und die haptophoren Radikale andererseits wird der chemische Charakter des Farbstoffes bestimmt. Saures Chromophor und saure Radikale, beide durch ihren Oxygengehalt als solche kenntlich gemacht, sind die kennzeichnenden Bestandteile einer Farbsäure, beziehungsweise eines das Salz einer Farbsäure darstellenden sauren Farbstoffes.

Saure, basische, neutrale Farbstoffe.

Stickstoffhaltige basische Radikale bei basischem Chromophor

kennzeichnen den **basischen Farbstoff**. Allerdings liegen die Verhältnisse nicht immer so einfach, daß nur ein oder mehrere gleichartige und gleichsinnige Radikale an ein Chromogen verankert sind: es können indifferente, saure und basische Radikale an dasselbe gebunden sein und je nach ihren Beschaffenheit die chemische Aktivität des Chromophor verstärken oder abschwächen.

Bringt man einen sauren und einen basischen Farbstoff in geeigneten Lösungen zusammen, so pflegen sich beide gegenseitig mehr oder minder vollständig abzusättigen und bilden eine neutrale chemische Verbindung, einen **neutralen Farbstoff**, welcher regelmäßig in dem ursprünglichen Lösungsmittel nicht mehr gelöst bleibt, sondern bei annähernd vollständiger Neutralisation als kristallinischer Niederschlag herausfällt. Durch Waschen mit dem ursprünglichen Lösungsmittel (in der Regel Wasser) kann man auf diese Weise neutrale Farbstoffe in kristallisiertem Zustande rein erhalten und sie, in einem anderen Menstruum gelöst, als Farbstoff weiter verwenden. Regelmäßig sind diese Farbstoffe auch in dem Überschusse der einen Komponente, sei es die saure oder die basische, löslich. Werden also saure und basische Farbstoffe in **der** Weise gemischt, daß nach erfolgter Absättigung von dem einen Farbstoffe noch ein Überschuß bleibt, so bekommen wir annähernd niederschlagsfreie Farbengemische mit neutraler Komponente.

Die Gewebe verhalten sich nun gegenüber diesen drei Arten von Farbstoffen und den Gemischen derselben zwar sehr verschieden, zeigen aber doch eine große Gesetzmäßigkeit dieses Verhaltens.

Oxyphile, basophile, neutrophile Gewebselemente.

Wenden wir einen sauren Farbstoff an, so färben sich immer nur gewisse Substanzen mit ihm, während sich andere vollständig ablehnend ihm gegenüber verhalten. Wir bezeichnen die ersteren als „**oxyphile**“ **Substanzen**, eben weil sie hohe Affinät zu sauren Farbstoffen besitzen; sie müssen also selbst basischen Charakter tragen. Es ist bemerkenswert, daß es auch unter den oxyphilen Substanzen noch weitere Differenzierungen gibt. Verwendet man ein Gemisch von mehreren sauren Farbstoffen, so färben sich z. B. die oxyphilen Granula der Leukozyten gelegentlich anders als das ebenfalls oxyphile Hämoglobin usw. Zu den oxyphilen Substanzen, welche uns speziell im folgenden noch beschäftigen werden, sind außer den eben genannten

noch zu zählen der schon einmal erwähnte Kernsaft und das Protoplasma der meisten Leukozyten, dieses allerdings nur in sehr geringem Grade.

Lassen wir auf ein Gewebe einen basischen Farbstoff einwirken, so färbt sich mit ihm vor allem die Chromatinsubstanz der Kerne, dann färben sich die Granula mancher, allerdings spärlicher Zellen, dann das Protoplasma der meisten einkernigen ungranulierten Leukozyten. Wir bezeichnen die färberisch derart gekennzeichneten Substanzen als „basophil"; sie müssen selbst sauren Charakter besitzen. Auch bei ihnen finden sich große Verschiedenheiten des elektiven Färbevermögens gegenüber verschiedenen basischen Farbstoffen.

Lassen wir ein neutrales Farbengemisch auf Gewebe einwirken, so färben sich die oxyphilen und basophilen Substanzen ausschließlich mit der ihnen zukommenden Farbstoffkomponente (siehe oben), und nur die feinkörnige Leukozytengranulation erscheint zumeist in dem Mischtone des neutralen Absättigungsproduktes gefärbt; sie ist die einzige anscheinend „neutrophile" Substanz.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß in den Geweben nicht alle Stoffe nur streng zu einer Art von Farbstoffen Verwandtschaft besitzen; gewisse besitzen sehr viele haptophore Gruppen verschiedenen Charakters und damit die Fähigkeit, sich sowohl mit sauren als mit basischen Farbstoffen zu verbinden, mit dem einen fester, mit dem anderen lockerer. Insbesondere scheint das von den Eiweißsubstanzen des Zellprotoplasmas zu gelten, die sich bei Anwendung der verschiedenen Färbemethoden je nach ihren Affinitäten recht verschieden färben, einmal mehr sauer, einmal mehr oder fast ausschließlich basisch. Es kann auch beobachtet werden, daß bei zweizeitiger Anwendung von Farbstoffen das Zellprotoplasma sich zunächst — sagen wir — mit dem sauren Farbstoffe verband, daß aber die nachfolgende Einwirkung der basischen Farbe den sauren Farbstoff aus dem Protoplasma vollkommen verdrängt und sich an seine Stelle setzt; oder aber es finden sich dann beide Farben nebeneinander.

Substantive Färbung.

Ich habe bisher nur von der direkten Einwirkung eines Farbstoffes auf ein Gewebe gesprochen. Dieses ist auch der häufigste Vorgang bei der Färbung; er wird als „substantive" Färbung bezeichnet. Es gibt aber noch einen anderen Vorgang,

und dieser besteht darin, daß eine Verbindung von Farbstoff und Gewebe erst durch Vermittlung eines dritten Stoffes, der als „Beize" dient, herbeigeführt wird; man spricht dann von „adjektiver Färbung". Ein täglich gebrauchtes Beispiel dieser Art stellt die Hämatoxylinfärbung dar. Der Pflanzenfarbstoff Hämatoxylin hat an sich schwach saure Eigenschaften und läßt, allein angewendet, Körpergewebe einfach ungefärbt. Wird aber der Farbstofflösung ein Überschuß von Alaun zugesetzt, so hat jetzt auf einmal das Hämatoxylin den Geweben, insbesondere dem Chromatin der Kerne gegenüber stark basische Eigenschaften angenommen und stellt tatsächlich unseren besten Kernfarbstoff dar. Ähnlich verhält es sich mit dem Karmin, bei welchem Alaun, Borax oder Lithion als Beize Verwendung finden. Die Beize verbindet sich einerseits mit dem Gewebe, andererseits mit dem Farbstoffe und kittet so beide sonst keine Affinität zeigenden Substanzen aneinander; sie wirkt sonach als „Ambozeptor" (Pappenheim).

Adjektive Färbung

Für die Blutfärbung sind nun alle die eben zusammengefaßten Momente von der allergrößten Bedeutung. Wir haben im Blute sowohl oxyphile als basophile als „neutrophile" Substanzen in großer Zahl; wir werden also alle Arten der besprochenen Farbstoffe gelegentlich in Anwendung ziehen können, um beliebige Einzelheiten darzustellen.

Spezielles über Blutfärbung

Die Färbung mit einem Farbstoffe allein gibt nur Einzelbilder, ermöglicht aber keine Übersicht über das Präparat. Um möglichst viel zu sehen, müssen wir mindestens zwei Farbstoffe in Verwendung ziehen, einen sauren und einen basischen; und wenn es uns möglich ist, werden wir Gemische anwenden, welche auch einen neutralen Farbstoff enthalten, um so nach Tunlichkeit allen drei färberisch verschiedenen Gewebselementen gerecht zu werden. Im übrigen werden aber die Färbemethoden je nach den besonderen Eigenschaften des zu untersuchenden Blutes und je nach den Absichten, welche man im besonderen Falle verfolgt, verschieden sein und auch verschieden sein müssen. So angenehm es wäre, mit einer Färbung auszukommen, so ist das doch bisher ein frommer Wunsch geblieben, und insbesondere, wenn man in die feineren Details der Zellstruktur einen Einblick gewinnen will, ist das Nebeneinander-Anwenden verschiedener Färbemethoden das einzige und beste Auskunftsmittel.

Trotz alledem beschränkt sich die Zahl der praktische Verwendung findenden Farbstoffe auf eine recht bescheidene Summe. Ich werde nicht meine Aufgabe bezüglich Färbung darin sehen, Ihnen alle alten und neuen, guten und schlechten Methoden anzuführen. Was der Praktiker sowohl als der Kliniker am notwendigsten braucht, wenn er nicht ganz ungebührlich viel Zeit verlieren soll, sind klare Angaben über die Ausführung und den Wert der notwendigen und allgemein verwendbaren Methoden, und eine Anleitung zur richtigen Auswahl derselben für seine besonderen Zwecke.

Wahl der Farbstoffe: a) saure, Als saure Farbstoffe kommen für den praktischen Gebrauch nur etwa die folgenden in Betracht: an allererster Stelle das Eosin, dann Orange G und Säurefuchsin, gelegentlich noch die Pikrinsäure; Aurantia, Indulin, Nigrosin haben keine praktische Bedeutung. — b) basische. Als basische Farbstoffe werden in der Hämatologie gebraucht: vor allem das Methylenblau, dann Methylgrün und der durch Alaunbeize mit basischen Eigenschaften ausgestattete, an sich schwach saure pflanzliche Farbstoff Hämatoxylin; Thionin, Gentianaviolett, Dahlia, Pyronin, Neutralrot und andere spielen praktisch keine Rolle. Lösungsmittel. Als Lösungsmittel für die Farbstoffe beider Art, ihre Mischungen und chemischen Verbindungen sind in Verwendung vor allem und zumeist das Wasser, dann Alkohol, Methylalkohol und gelegentlich als Zusatz, seltener allein, das Glyzerin.

Sie sehen schon hieraus, und das soll im folgenden noch mehr zum Ausdrucke kommen, daß unser Bestreben darauf gerichtet ist, möglichst wenig Färbemethoden in Anwendung zu bringen und das ganze Färbeverfahren für die Darstellung aller in Betracht kommenden Einzelheiten der histologischen Befunde möglichst einheitlich zu gestalten. Leider ist eine wirklich einheitliche „Universalfärbung" bis heute noch niemandem gelungen, wenn auch immer wieder neue Versuche in dieser Hinsicht gemacht werden.

Nur selten wenden wir einen Farbstoff allein an; für Allgemein- und Übersichtsbilder verwenden wir immer mindestens zwei Farbstoffe, entweder in getrennten Lösungen nacheinander oder in Farbstoffgemischen oder aber endlich als neutrale chemische Verbindung.

Soweit es sich nicht um schwer herstellbare Farbstoffgemische oder um die Darstellung neuer Farbstoffe aus der che-

mischen Einwirkung ihrer Komponenten aufeinander handelt, wird es sich immer am meisten empfehlen, sich die Farbstofflösungen selbst zu bereiten. Man ist auf diese Weise unabhängig von der größeren oder geringeren Sorgfalt eines Apothekers, der solche Herstellungen als eine Last empfindet, man kann gelegentlich eigene Erfahrungen sammeln und weiß jedenfalls immer, woran man ist. Die Farbstoffe in Substanz beziehe man nur aus verläßlicher Quelle, und als eine solche kann ich Ihnen für alle Ihre färberischen Bedürfnisse die Fabrik von Dr. Grübler in Leipzig mit gutem Gewissen empfehlen.*) Bezugsquelle.

Sie erhalten von dort alle nur erdenklichen Farbstoffe irgendwelcher Herkunft in Substanz sowohl als in Lösung. Das Anschaffen der letzteren empfehle ich Ihnen, wie gesagt, nur für kompliziertere Farbstoffgemische, welche für ihre Herstellung eine große Erfahrung und größere Hilfsmittel oder viel Zeit voraussetzen.

Von den verschiedenen Eosinmarken, die sich im Handel finden, empfiehlt sich für hämatologische Zwecke nach meinen Erfahrungen allgemein am meisten das „reine französische Eosin" von Grübler. Es stellt eine dunkelrote körnige Masse dar. Für bestimmte Färbungen wird Eosin BA der Höchster Farbenwerke vorgeschrieben; in diesem Falle empfiehlt es sich, bei der Vorschrift zu bleiben. Auch dieser Farbstoff ist von Grübler zu beziehen. Andere Eosinmarken sind unnütz. Orange G und Säurefuchsin kommen nur als Bestandteile des Ehrlichschen Triazids, das Sie am besten als fertige Lösung ebenfalls von Grübler beziehen, in Betracht; Einzellösungen werden praktisch nicht verwendet. Eosinmarken. Triazid.

Von Methylenblau sind drei Marken, sämtliche bei Dr. Grübler erhältlich, zu empfehlen: Das Methylenblau medicinale purissimum Höchst, das Methylenblau rectificatum nach Ehrlich und das Methylenblau B pat. - Hämatoxylin können Sie schließlich auch in Substanz beziehen; doch braucht die Herstellung gut färbender Lösungen dieses Farbstoffes viele Zeit und nimmt viel Mühe in Anspruch. Ich halte es also für klüger, sich die erforderlichen Lösungen als solche von Grübler direkt zu bestellen. Methylenblau. Hämatoxylin.

---

*) Vertreter für Österreich-Ungarn: Hermann Dümler, Wien, IX/3, Schwarzspanierstraße.

Farbstofflösungen: Rezepte

Die Farbstofflösungen, welche Sie für die im fol-genden des näheren erörterten und für praktische und klinische Zwecke wohl vollkommen ausreichenden Färbemethoden be-nötigen, sind folgende:

1. Eosin, französisch, rein, in $^1/_2$%iger Lösung in 70 oder 60%igem Alkohol, also nach dem Rezepte:

Eosin (franz., rein)	1,0
Alkohol absolut.	140,0 (120,0)
Aq. destillat.	60,0 (80,0)

2. Eosin BA Höchst in einer $^1/_{10}$%igen wässerigen Lö-sung, also:

Eosini BA Höchst	0,2
Aq. destillat.	200,0

3. Methylenblau (B. pat. Dr. Grübler) in 1%iger wässeriger Lösung, also:

Methylenblau	2,0
Aq. destillat.	200,0

4. Methylenblau, z. B. Methylenblau B. pat. (oder rektif. Ehrlich) in $^1/_4$%iger wässeriger Lösung, also:

Methylenblau B pat.	0,5
Aq. destillat.	200,0

5. Methylenblau (eine der obigen Marken) in 1%iger Lösung in 50—60%igem Alkohol, also:

Methylenblau (medic. puriss.) . . .	2,0
Alkohol absolut.	100,0—120,0
Aq. destillat.	100,0— 80,0

6. Alkalisiertes Methylenblau nach folgender Vor-schrift:

Methylenblau medic. puriss.	2,0
Aq. destillat.	200,0
Natrii carbonici puri	1,0

oder anstatt der Soda

Natrii biboracici	5,0

Die Farbstofflösung ist durch zweimal 24 Stunden im Thermo-staten auf eine Temperatur zwischen 50 und 60° zu erwärmen, erst dann ist sie brauchbar. Sie muß einen blau-violetten Stich haben; wenn man eine verdünnte Lösung mit Chloroform oder Äther schüttelt, so müssen sich diese sehr deutlich purpur-rot färben.

7. Hämatoxylin nach Delafield. Als fertige Lösung von Grübler zu beziehen. Die Vorschrift lautet:

a) 1 g kristallisiertes Hämatoxylin wird in 6 cm^3 Alkohol absolut. gelöst;

b) 15 g Ammoniakalaun werden in 100 cm^3 Aqua destillata warm gelöst, nach dem Erkalten filtriert.

Dann werden a) und b) zusammengegossen, die Mischung, welche drei Tage in weit offenem Gefäße am Lichte stehen muß, wird dann filtriert und mit 25 cm^3 Glyzerin und 25 cm^3 Methylalkohol versetzt. Nach drei Tagen nochmaliges Filtrieren. Dann muß die Mischung noch wenigstens zwei Monate in offenem Glase „reifen", ehe sie geschlossen werden darf und gebrauchsfähig ist. Die Lösungen sind am besten, wenn sie bereits ein gewisses, nach Monaten zählendes Alter erreicht haben. Sie halten sich lange.

8. Hämatoxylin, sauer, nach Ehrlich. Ebenfalls als fertige Lösung von Grübler zu beziehen. Die Vorschrift lautet:

Haematoxylin		2,0
Alkohol absol.		
Aq. destill.		
Glycerin	aa.	100,0
Acidi acetici glacialis		10,0
Alaun im Überschuß.		

Die Mischung bleibt in den ersten Tagen ebenfalls offen stehen, bis sie dunkel geworden ist. Ältere Lösungen (nach Monaten) sind am besten.

8 a) Durch Zusatz von 0,5 g Eosin zu der eben angeführten Lösung erhält man das Ehrlichsche Eosin-Hämatoxylingemisch.

Über die etwas komplizierteren Eosin-Methylenblaumischungen der verschiedensten Art, insbesondere diejenigen, welche für die vielfachen Modifikationen des Romanowsky-Ziemannschen Färbeverfahrens Verwendung finden, ebenso wie über das Triazid von Ehrlich werde ich mich noch später des Ausführlicheren zu äußern haben. Ich darf daher wohl heute, um Wiederholungen zu vermeiden, deren Zusammensetzung übergehen.

8. Vorlesung.

(Färbelehre, Fortsetzung und Schluß.)

Mit den in unseren letzten Besprechungen angeführten Farbstofflösungen lassen sich drei Arten kombinierter Färbung, welche allgemein üblich sind, herstellen, nämlich Doppelfärbungen mit Eosin-Methylenblau (sowie einfache Methylenblaufärbungen), Doppelfärbungen mit Eosin-Hämatoxylin und endlich Triazidfärbungen.

Wir wollen nun als die erste, größte und jedenfalls theoretisch, beinahe auch praktisch wichtigste Gruppe dieser Färbeverfahren zunächst besprechen die

Doppelfärbungen mit Eosin-Methylenblau.

Allgemeine Vorbemerkungen.

Die Zusammenstellung dieser beiden Farbstoffe zu kombinierten Färbeverfahren ist nicht nur die älteste Blutfärbungsmethode, sondern muß auch heute noch als die glücklichste Farbenzusammenstellung und als diejenige bezeichnet werden, welche am ehesten berufen sein könnte, eine Universal-Blutfärbung zu liefern. Das Eosin ist ohne Zweifel unser vorzüglichster saurer Farbstoff, das Methylenblau von den basischen Anilinfarbstoffen derjenige, welcher am besten allen Anforderungen zu entsprechen vermöchte. Aber leider ist die Ausgestaltung dieses Färbeverfahrens bisher immer wieder auf neue Schwierigkeiten gestoßen, so daß wir heute zwar bereits über eine große Reihe von Doppelfärbungen mit den beiden Substanzen verfügen, aber noch immer über keine für alle Verhältnisse hinreichende und befriedigende Universal-Färbemethode.

Das Eosin hat als saurer Farbstoff eine hohe Verwandtschaft zu dem Hämoglobin der Erythrozyten und zu den oxyphilen Granulationen der Leukozyten, geringere Verwandtschaft

zu den sogenannten neutrophilen Granulationen und zu dem Protoplasma der verschiedenen, insbesondere der einkernigen Leukozytenarten, sowie endlich auch zu dem das Kerngerüst umspülenden oxyphilen Kernsafte. Das Methylenblau hat große Affinität zu allen Kernen, d. h. zu deren chromatischer Substanz, dann zu den basophilen Granulationen der Mastzellen, endlich beträchtliche Verwandtschaft zum Protoplasma der einkernigen ungranulierten Leukozyten, insbesondere der Lymphozyten.

Schon aus dieser Nebeneinanderstellung der mit beiden Farbstoffen bereits ohne gegenseitige Einwirkung möglichen Teilfärbungen, aus welchen nur die Färbung der Mastzellengranula für gewöhnliche Verhältnisse aus später zu besprechenden Gründen auszuschalten ist, ergibt sich, daß wir von der in Rede stehenden Farbstoffkombination Übersichtsfärbungen von hervorragender Klarheit und Vielseitigkeit erwarten dürfen.

Kristallisierte Eosin-Methylenblau-Verbindung.

Die Färbungsmöglichkeiten werden aber noch durch zwei Momente sehr wesentlich erhöht. Erstens dadurch, daß Eosin und Methylenblau in wässerigen Lösungen zusammengebracht sich miteinander zu einem kristallisierbaren neutralen Farbstoffe von violettem Ton, dem Eosin-Methylenblau, verbinden, welcher Farbstoff in Wasser fast unlöslich, dagegen in Alkohol, Methylalkohol, Methylal, Aceton, sowie auch in einem beträchtlicheren Überschuß von Methylenblau in der wässerigen Farbmischung selbst löslich ist. Wie ich bereits in der allgemeinen Einleitung zur Färbelehre hervorgehoben habe, besitzen diese Lösungen der neutralen Eosin-Methylenblauverbindung die Eigenschaft, auf das Gewebe zum großen Teile so einzuwirken, als wären beide Komponenten, die saure und basische, von vorneherein frei im Farbstoffe vorhanden; auch die sogenannten neutrophilen Substanzen färben sich gewöhnlich nicht in dem der chemischen neutralen Verbindung zukommenden violetten Farbentone, sondern ganz allgemein mattrot. Es ist für den Praktiker wohl völlig gleichgültig, ob diese eigenartige Färbung durch eine teilweise chemische Zerlegung des Farbstoffes unter Einwirkung der Gewebe ermöglicht wird, oder aber durch eine in der Lösung selbst bereits vorhandene Dissoziation.

Methylenazur.

Eine noch weiter gehende Ausgestaltung hat das Eosin-Methylenblau-Färbeverfahren dadurch gewonnen, daß es gelungen ist, durch Einwirkung von Alkalien (Borax oder neutraler Soda) und Wärme das Methylenblau ganz oder zum Teile in solcher

Weise zu zersetzen, daß aus ihm (außer färberisch belanglosen Zwischenprodukten noch) ein zweiter basischer Farbstoff von rotviolettem Farbenton und von teilweise recht wesentlich anderen Färbeaffinitäten gebildet wird, welchen zunächst Nocht als „Rot aus Methylenblau" bezeichnete, den man aber seither als das schon von früher her bekannte „Methylenazur" agnosziert hat. Als besonders wertvoll hat sich diese unter Alkali- und Wärmeeinwirkung erfolgende Zersetzung des Methylenblaus für die färberische Darstellung der Malariaparasiten erwiesen, deren Struktureigentümlichkeiten mit Hilfe dieses Verfahrens in bisher ungeahnter Weise aufgedeckt wurden. Aber auch für die gesamte Blutfärbung hat man Nutzen aus ihr gezogen, da sich auch das Methylenazur mit dem Eosin verbindet und einen kristallisierten Farbstoff gibt, welcher neben einer mehr oder minder vollkommenen Färbung der „neutrophilen" Substanzen auch die färberischen Differenzierungen von Kern und Protoplasma der verschiedenen Zellarten des Blutes vielfach schärfer gestaltet als die Anwendung der gewöhnlichen Eosin-Methylenblaufärbung.

Diese letztangeführten Funde sind Errungenschaften der letzten Jahre.

Bis zu dieser Zeit kannte man das Wesen der in Eosin-Methylenblaumischungen auftretenden Veränderungen nicht und wunderte sich nur immer, warum denn die seit altersher gebräuchlichen Mischungen so ganz wechselnde und unverläßliche färberische Resultate geben. Diese Unverläßlichkeit der Mischungen war immer wieder der Anlaß, von der einzeitigen Färbung mit einer Mischung beider Farbstoffe abzusehen und zu einer zweizeitigen Nacheinanderfärbung mit den einzelnen Farbstoffen zu greifen: Und zwischen diesen beiden Verfahren schwankten wirklich bis in die letzte Zeit alle Versuche auf dem Gebiete der Eosin-Methylenblaufärbungen hin und her. So wenig positiven Erfolg sie auch ergaben, sie wurden immer wieder aufrecht erhalten durch die Malariaforschung, für welche sich Doppelfärbungen dieser Art als unentbehrlich erwiesen.

Einzeitige Färbung mit Eosin-Methylenblau-Gemischen

Ich will Ihnen nur in Kürze ein paar ältere Färbeverfahren skizzieren, obwohl sie heute nicht mehr ganz modern und aktuell sind, weil sie doch bis vor ganz kurzer Zeit in Gebrauch waren, und weil sie uns zum Teile auch durch die Namen ihrer Erfinder näher gebracht werden.

Malariastudien verdankte die Plehnsche Eosin-Methylenblaumischung ihre Entstehung. Sie war wie folgt zusammengesetzt: a) nach Plehn.

Konzentrierte wässerige Methylenblaulösung .	60,0
$^1/_2$%ige Eosinlösung in 75%igem Alkohol . .	20,0
Aq. destillatae	40,0
Kalilauge (20%)	gtt. XII

Färbung mit der jedesmal filtrierten Lösung durch fünf bis sechs Minuten in der Kälte nach vorausgegangener Alkoholfixation.

Eine andere, bisher viel gebrauchte und ziemlich haltbare Färbemischung war die von Chenzinsky, welche sich zusammensetzt aus: b) nach Chenzinsky.

Gesättigte wässerige Methylenblaulösung . .	40,0
$^1/_2$%ige Eosinlösung in 70%igem Alkohol . .	20,0
Aq. destillatae	40,0

Die Lösung mußte nach Alkoholfixation in filtriertem Zustande durch 6—24 Stunden bei Bruttemperatur im Blockschälchen einwirken. Beschleunigen kann man nach Engel das Färbeverfahren, wenn man das Präparat in einem Schälchen über die Flamme bis zum Aufsteigen der ersten Dämpfe erhitzt.

Ehrlich und Lazarus empfehlen für den gleichen Zweck eine ganz frische, unmittelbar vor der Färbung hergestellte Mischung von: c) nach Ehrlich-Lazarus.

1%ige wässerige Eosinlösung	10,0
Methylal	8,0
Gesättigte wässerige Lösung von Methylenblau medicinale	10,0

Das Gemisch soll in einer, höchstens zwei Minuten färben, liefert jedoch nach Angabe der Autoren selbst schöne Bilder nur bei sehr sorgfältiger und gut gelungener Hitzefixation.

Diesen und anderen Farbstoffgemischen stehen als gleichalterig und gleichwertig die zweizeitigen Färbungen mit den gesonderten Lösungen beider Farbstoffe gegenüber, wie sie von Aldehoff und Gabritschewsky seit langem angegeben sind. Fast jeder Autor hat da seine eigene Kombination gebraucht, und sie mögen in der Hand ihres Beherrschers schließlich alle ihren Zweck erfüllt haben. Zweizeitige Färbung.

Alle diese Verfahren gaben manchmal ganz prächtige Bilder, versagten aber ein nächstes Mal vollkommen, ohne daß man eine Ahnung hatte, warum.

So ist es auch mir mit einem zweizeitigen Färbeverfahren ergangen, das ich bis zum vorigen Jahre immer dann anwendete, wenn ich eine Eosin-Methylenblaukombination wählte; auch heute verwende ich dieses Verfahren noch hie und da und ich führe es an, weil es den bisher besprochenen Methoden jedenfalls gleichwertig ist, und es immerhin ratsam erscheint, auch die Einzelvorschriften für eines dieser Verfahren zu kennen.

Eigene zweizeitige Färbung.

Ich fixierte und fixiere ausschließlich in Methylalkohol durch drei bis fünf Minuten; wenn ich keine Eile habe, auch länger. Sodann kommt das Präparat direkt auf drei bis fünf Minuten in die oben angeführte $^1/_2$%ige Eosinlösung in 60—70%igem Alkohol. Hierauf wird abgespült und getrocknet. Ich halte es für gut, wenn man das Präparat jetzt entweder längere Zeit an der Luft liegen läßt, oder aber es einige Male über der Bunsenflamme leicht erwärmt. Es darf nicht so heiß werden, daß es, mit der unteren Fläche auf den Handrücken gebracht, einen Schmerz erzeugt. Das Ganze soll den Zweck haben, das Eosin im Präparate, speziell in denjenigen Gewebsteilen, an welche es nicht sehr fest gebunden ist, einigermaßen zu fixieren. Die Erfahrung hat nämlich gelehrt, daß die nachfolgende Methylenblaubehandlung sehr leicht das Eosin aus diesen Substanzen mehr oder minder vollkommen verdrängt, und hiedurch leiden die Präparate oft ganz außerordentlich. Einmal sind nur die ursprünglich mit Eosin schwach rot gefärbten Granula der neutrophilen Zellen wieder entfärbt, ein andermal ist aber auch den Erythrozyten ein Teil des Eosins entzogen worden, und dann sind die Präparate überhaupt unbrauchbar. Offenbar ist der Modus der Eosinentziehung durch die nachfolgende Methylenblaubehandlung der folgende: Das Methylenblau selbst hat eine größere Affinität zum Eosin als die betreffenden Gewebe bei der vorhanden gewesenen Fixation, daher entzieht das Methylenblau den Geweben das Eosin, um sich selbst mit ihm zu verbinden. Einer derartigen Störung also soll und kann bis zu einem gewissen Grade von Sicherheit die leichte und jedenfalls sehr vorsichtige Erwärmung des mit Eosin bereits vorgefärbten Präparates steuern. Nach dieser Zwischenhandlung färbe ich durch eine halbe bis eine Minute auf dem Deckglase mit einer

1%igen wässerigen Lösung von Methylenblau B. pat. nach. Es genügt übrigens auch die oben angeführte $^1/_4$%ige wässerige Lösung desselben Farbstoffes, und zweifellos lassen sich auch andere Konzentrationen nach entsprechender Erprobung mit demselben Erfolge verwenden. Kurzes Abspülen in Wasser und sofortiges Trocknen zwischen Filtrierpapier. Einbettung.

Ich habe bei Einhaltung dieser Methodik meistenteils gut brauchbare, manchmal sogar sehr schöne Präparate bekommen; Erythrozyten und eosinophile Granula sind prächtig gefärbt, ebenso die Kerne. Nur die neutrophilen Granula zeigen sich inkonstant; manchmal treten sie sogar recht schön und deutlich hervor, das aber verhältnismäßig selten; aber in allen nur halbwegs gelungenen Präparaten kann man wenigstens den Protoplasmaleib der neutrophilen Zellen blaßrot gefärbt sehen mit Andeutung der Granulation. Aber es ist mir immer wieder einmal, ohne daß ich den Grund wußte, passiert, daß das Protoplasma der Neutrophilen überhaupt farblos war, und gelegentlich sogar, daß auch die Erythrozytenfärbung gelitten hatte.

Dieser Umstand, sowie die Tatsache, daß die von ihren Autoren viel gerühmten neueren Eosin-Methylenblaumethoden nach Willebrand oder Michaëlis usw. in den Händen anderer Untersucher gewöhnlich versagen, waren der Anlaß, aus welchem ich Herrn cand. med. v. Müllern, Hospitanten unserer Klinik, anregte, sich mit der Färberei, die ihn interessierte, etwas eingehender zu beschäftigen, um vielleicht eine verläßlichere Färbemethode zu finden. In der Tat ist es meines Erachtens Müllern auf eine sehr einfache Weise gelungen, die der Schönheit und Klarheit der Präparate so sehr schädliche verschieden starke Verdrängung des Eosins durch die Nachbehandlung mit Methylenblau zu verhindern und ein Verfahren zu finden, welches rasch und verläßlich jedenfalls bessere Bilder liefert als alle bisher vorgeschlagenen Methoden der zweizeitigen Färbung, und auch bessere als alle bisher angegebenen einzeitigen Eosin-Methylenblaumethoden mit Ausnahme der aus verschiedenen Gründen mit diesen Bildern nicht vergleichbaren Modifikationen der Methode von Romanowsky-Ziemann-Nocht.

Zweizeitige Färbung nach v. Müllern.

Auch die Methode v. Müllerns beruht auf einer zweizeitigen Färbung, jedoch wird zur Nachfärbung nicht reines Methylenblau, sondern ein Eosin-Methylenblaugemisch verwendet.

Auf diese Weise wird ein großer Teil des Methylenblaus durch Eosin in der Mischung selbst abgesättigt, die Aggressivität des Methylenblaus gegenüber dem in den Geweben locker gebundenen Eosin ist hiedurch, wenn schon vielleicht nicht immer ganz aufgehoben, so doch auf ein sehr geringes Maß herabgesetzt; die neutrophilen Granula behalten ihren Farbstoff und treten als deutlich rot gefärbte Körnchen hervor. Wenn die Methode in der sofort anzugebenden Weise sorgfältig und unter genauer Wahrung des Mischungsverhältnisses ausgeführt wird, versagt sie eigentlich niemals; es gelingen naturgemäß nicht alle Präparate gleich gut, aber um eines wirklich schlecht zu machen, muß man schon sehr ungeschickt oder nachlässig sein.

Für die Methode von Müllern, welche ich also jedem als die meines Erachtens beste und verläßlichste von den einfach durchzuführenden Eosin-Methylenblaufärbungen wärmstens empfehlen kann, kommen die auf S. 200 unter 1. und 4. angeführten Lösungen von Eosin französisch rein ($^1/_2$%ig in 70%igem Alkohol) und Methylenblau B. pat. ($^1/_4$%ig in Wasser) zur Verwendung. Es ist am praktischesten, sich beide Lösungen in Tropfgläschen, die beide möglichst gleich große Tropfen geben, aufzubewahren. Die Methode kommt nun in folgender Weise zur Durchführung:

1. Fixation des Präparates in Methylalkohol durch drei Minuten;

2. direkte Übertragung in die $^1/_2$%ige alkoholische Eosinlösung auf ebenfalls drei bis höchstens fünf Minuten zur Vorfärbung;

3. Abspülen in destilliertem Wasser (Brunnenwasser ist minder gut) und Trocknen zwischen Filtrierpapier;

4. Einlegen in eine sorgfältig abgemessene und gut verrührte frische Mischung von Methylenblaulösung 20 Tropfen, Eosinlösung 10 Tropfen auf eine halbe bis höchstens eine Minute;

5. rasches und kurzes Abspülen in destilliertem Wasser und rasches Trocknen zwischen Filtrierpapier oder über der Flamme. Einbettung in Kanada.

Die Eosinlösungen sollen nicht gar zu alt sein, hiegegen färben ältere Methylenblaulösungen im allgemeinen besser als junge. Am besten färben sich nach v. Müllern Präparate, welche einen bis zwei Tage alt sind; Präparate, welche schon über eine Woche gelegen waren, zeigen, wie bei allen Eosin-Methylen-

blaumethoden, leicht Plasmafärbung, auch sind die neutrophilen Granulationen nicht mehr so schön. Zu achten ist darauf, daß nach der Färbung in der Eosin-Methylenblaumischung nur kurz abgespült und rasch getrocknet werde, weil sonst durch die Wassereinwirkung leicht den Kernen zuviel Methylenblau entzogen wird. Färben sich die Kerne überhaupt einmal schlecht, was vorkommt, so fixiere man ein zweites Präparat länger in Methylalkohol.

Ich bin überzeugt, daß mir jetzt der Einwand gemacht werden wird: Wozu in Eosin vorfärben, da ja doch die Eosin-Methylenblaumischung allein imstande ist, den färberischen Effekt zu erzielen? Das ist ja zum Teile richtig. Manchmal bekommt man bei Anwendung der Mischung allein auch ganz gute Bilder, aber es ist kein Verlaß darauf; wenn man aber kräftig mit Eosin vorfärbt, so hat das Gemisch nur mehr die Färbung der basophilen Elemente nachzutragen, und dieser Aufgabe kommt es wesentlich prompter nach als der Gesamtfärbung. Man erreicht durch die Vorfärbung eine größere Sicherheit des Gelingens überhaupt und eine schärfere Hervorhebung der oxyphilen und „neutrophilen" Substanzen. Die basophilen Granula bleiben ungefärbt.

Eosinsaures Methylenblau als Farbstoff.

Ich komme jetzt zur Besprechung zweier Färbemethoden, welche theoretisch insoferne einen Fortschritt bedeuten, als man an Stelle der wechselnden Mischungen von Eosin-Methylenblau, in denen sich zweifellos in einem sehr verschiedenen und unkontrollierbaren Ausmaße die neutrale Verbindung des Eosin-Methylenblau bildet, diesen Farbstoff selbst rein darstellt und seine Lösung als Färbemittel verwendet. Ein Novum bieten sie auch noch insoferne, als die Präparate unfixiert gefärbt werden können, weil als Lösungsmittel des Farbstoffes konzentrierter reiner Methylalkohol in Verwendung kommt. Dieser Umstand war es ja, welcher mich, als ich zum ersten Male von der Jenner-schen Methode Kenntnis erhielt, sofort veranlaßte, den Methylalkohol auch für andere Färbungen mit anderen Lösungsmitteln an sich als Fixationsmittel zu verwenden, worin er sich, wie bereits besprochen, in der glänzendsten Weise bewährt hat.

a) Jenners Farbstoff.

Als erster hat dieses Verfahren der direkten Verwendung des eosinsauren Methylenblaus in methylalkoholischer Lösung Louis Jenner*) angegeben. Er stellt sich seinen Farbstoff in folgender Weise dar: Eine 1,2—1,25%ige Lösung von Grüb-

*) Lancet. 1899, I., S. 370.

l e r s wasserlöslichem Eosin in destilliertem Wasser und eine $1^{0}/_{0}$ige Lösung von Methylenblau medicinale werden zu gleichen Teilen in weit offenem Gefäße (Becherglas) miteinander gemischt und unter wiederholtem Umrühren 24 Stunden im offenen Gefäße stehen gelassen. Es fällt ein reichlicher dunkler Niederschlag heraus. Dieser wird auf dem Filter gesammelt und unter Absaugen mit destilliertem Wasser so lange gewaschen, bis die Waschflüssigkeit nur mehr schwach bläulich gefärbt ist. Dann wird der Niederschlag bei gewöhnlicher Temperatur oder ohne Schaden auch bei 55° C getrocknet und pulverisiert. 0,5 g des so erhaltenen kristallinischen Farbstoffes (Eosin-Methylenblau) werden in 100 cm³ chemisch reinen Methylalkohols (M e r c k) gelöst, und die Lösung wird zur Färbung durch ein bis drei Minuten auf das unfixierte, einfach lufttrockene Präparat gebracht. Nach dieser Zeit wird in destilliertem Wasser fünf bis zehn Sekunden gewaschen, bis das Präparat rosafarben erscheint, und rasch unter Schwenken getrocknet (Filtrierpapier und Erwärmen über der Flamme ist zu vermeiden). Einbettung in Xylol-Kanadabalsam.

b) May-Grünwald,

Fast drei Jahre später haben M a y und G r ü n w a l d *) ein Verfahren angegeben, das mit Ausnahme der Konzentration der Stammlösungen fast peinlich genau die Vorschriften J e n n e r s wiederholt. Sie verwenden von Eosin und Methylenblau gleiche Mengen einer $1^{0}/_{00}$igen Lösung zur Ausfällung der Eosin-Methylenblauverbindung, verfahren dann genau so wie J e n n e r und stellen von dem erhaltenen getrockneten Farbstoff eine gesättigte Lösung in Methylalkohol her, in welcher sie die unfixierten Präparate zwei Minuten und länger färben. Sie spülen in destilliertem Wasesr ab, dem einige Tropfen der Farblösung zugesetzt worden sind.

Dieses Verfahren kann also im besten Falle als eine Variante des Verfahrens von J e n n e r angesehen werden. Beide Ausführungen desselben Prinzipes können ohne Zweifel zu guten Färbungen führen, wenn die Herstellung des Farbstoffes tadellos vor sich gegangen ist. Das ist aber eine langwierige Aufgabe, der sich nicht jedermann leicht unterziehen kann. Allerdings bekommt man den festen Farbstoff fertig bei G r ü b l e r zu kaufen; aber ich habe bisher nur schlechte Erfahrungen damit gemacht. Sobald man einmal den Farbstoff in verläßlicher Güte fertig beziehen kann, wird das Verfahren nach J e n n e r jeden-

*) Zentralblatt für innere Medizin. 1902, Nr. 11.

falls wegen seiner Raschheit und wegen der guten Brauchbarkeit seiner Bilder mehr zu empfehlen sein als jetzt; denn dann ist es ungemein schnell und einfach durchzuführen. Übrigens sind auch die schönsten Bilder, welche ich von diesem Farbstoffe überhaupt gesehen habe, keinesfalls besser gewesen als die, welche man mit der Methode v. Müllerns erzielt, ich möchte im Gegenteil nach allem, was ich bisher sehen konnte, das letztere Verfahren vorläufig auch dem Jennerschen Verfahren vorziehen, da ich die Differenzierung noch schärfer finde. Der einzige Vorzug des Jennerschen Verfahrens ist die hiebei erreichbare Färbung der Mastzellengranulation. Für gewöhnlich kommt diese allerdings nicht sehr in Betracht, um so weniger, als man die Mastzellen auch ohne Granulationsfärbung spielend leicht zu erkennen vermag.

Vor einem Jahre hat übrigens Laporte*) die Methode Jenners durch Kombination mit der Anwendung von verdünntem polychromem Methylenblau zu verbessern getrachtet. Er gibt auf das Deckglaspräparat fünf Tropfen Jennersche Lösung und setzt nach einer Minute auf dem Deckgläschen auf einmal die doppelte Menge (zehn Tropfen) einer verdünnten Lösung von Unnas polychromem Methylenblau (Grübler) zu, welche er sich durch Verdünnung von zwei Tropfen dieser Farbstofflösung mit 15 cm³ destillierten Wassers hergestellt hat. Die beiden Farblösungen werden durch Hin- und Herneigen des Präparates auf dem Deckglase miteinander gemischt und wirken fünf Minuten ein. Dann wird in destilliertem Wasser abgespült und in einer sehr verdünnten Essigsäure (ein Tropfen 50%ige Essigsäure auf 300 cm³ Wasser) differenziert bis zur Rosafärbung des Präparates. Abspülen, Trocknen an der Luft (ohne Filtrierpapier, ohne Hitze!). Ebenso wie das polychrome Methylenblau Unnas könnte wohl irgend eine alkalisch gemachte und erwärmte andere Lösung von Methylenblau, welche also Azur enthält (z. B. die auf S. 200 unter 6. angegebene) Verwendung finden. Laporte findet die von ihm erzielten Bilder sehr schön und instruktiv, v. Müllern warnt vor Niederschlägen. c) Jenner-Laporte.

Dieses letztgenannte Verfahren bildet bereits den Übergang zu der in den letzten Jahren mächtig groß gewordenen Gruppe jener Färbungen, welche sich an einen bescheidenen Versuch Färbemethodik nach Romanowsky.

*) Fortschritte der Medizin. 1903, Nr. 11.

14*

Romanowskys angeschlossen haben und die speziell in der jetzt so lebhaft betriebenen Malariaforschung wurzeln. Sie geben aber nicht nur unübertrefflich schöne und lehrreiche Bilder der Malariaparasiten, sondern sie bereichern auch die allgemeine Blutforschung um prächtige Bilder, die nur leider auch noch nicht die wünschenswerte Gleichmäßigkeit, namentlich der Granulationsfärbung, erreicht haben.

Romanowsky*) hat im Jahre 1891 dadurch, daß er eine wässerige Methylenblaulösung so lange mit einer wässerigen Eosinlösung versetzte, bis ein in der Mischung unlöslicher Niederschlag herauszufallen begann, und in dieser Mischung nun Präparate von Malariablut färbte, die Entdeckung gemacht, daß sich in diesen Mischungen ein Bestandteil der Plasmodien, die später so genannte Chromatinsubstanz, welche bei einfacher Methylenblaubehandlung ganz farblos bleibt, prächtig rot färbe. Es zeigte sich aber, daß das Gelingen der Färbung von der Marke des verwendeten Methylenblaus, von dem Alter der Lösungen und von der Genauigkeit der Mischung außerordentlich abhängig sei, und die Methode wurde lange Zeit aus diesen Gründen oder aber wegen der vielfach unerträglichen Verunreinigung der Präparate durch Niederschläge wenig geübt.

Ausgestaltung derselben: a) Ziemann I,

Erst Ziemann**) nahm sich die Mühe, in ausführlichen Untersuchungen jene Bedingungen festzustellen, unter welchen die Färbung gelingt, und kam 1898 zunächst zu dem Schlusse, daß dem Mischungsverhältnisse der beiden Farbstoffe die größte Bedeutung zukomme; er mischte fünf bis sechs Teile eines 0,1%igen Lösung von Eosin AG oder BA Höchst mit einem Teile einer 1%igen Lösung von Methylenblau medicinale pur. Höchst und bekam in 20—40 Minuten eine kräftige Chromatinfärbung. Dem Gewichtsverhältnisse nach war annähernd halb soviel Eosin als Methylenblau in seiner Mischung vorhanden. Sein Verfahren war aber zunächst so umständlich und zeitraubend, daß eine allgemeinere Anwendung ausgeschlossen erschien.

b) Nocht I,

Inzwischen hatte Nocht***) gefunden, daß nicht, wie man bisher meinte, die entstehende Eosin-Methylenblauverbindung das

*) St. Petersburger medizinische Wochenschrift, 1891, und: Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria. Deutsch von P. Werner, St. Petersburg, 1891.

**) Über Malaria- und andere Blutparasiten. Jena, Fischer, 1898.

***) Zentralblatt für Bakteriologie, Bd. 24, Nr. 22, 1898.

färbende Prinzip der Methode darstelle, sondern daß „Verunreinigungen" der Methylblau-Stammlösung, beziehungsweise deren Verbindung mit Eosin dafür verantwortlich zu machen seien. Da die in Betracht kommenden Zersetzungsprodukte des Methylenblaus besonders in Unnas polychromem Methylenblau vorhanden waren, so verwendete er einen Zusatz von polychromem Methylenblau, das er wegen der störenden Wirkung des freien Alkali zuvor annähernd neutralisiert hatte, zur Romanowskyschen Farbenmischung und bekam zuverläßlich eine tadellose Chromatinfärbung auch ohne peinlich exaktes Abmessen, wenn er folgendermaßen vorging und dabei nur die Farbentöne genau beobachtete: 1 cm³ neutralisierter Lösung von polychromem Methylenblau (Grübler) wird mit ungefähr der gleichen Menge Wasser verdünnt, und dann tropft man in einem Schälchen so viel von einer beliebig konzentrierten wässerigen Methylenblaulösung zu, bis der rötliche Stich des Gemisches einem rein dunkelblauen Farbentone Platz gemacht hat. In einem zweiten Schälchen werden drei bis vier Tropfen einer 1%igen wässerigen Eosinlösung mit 1—2 cm³ Wasser verdünnt, und zu dieser verdünnten Eosinlösung tropft man dann von dem früher hergestellten Methylenblaugemische so lange zu, bis auch die Eosinlösung ganz dunkelblau geworden ist und höchstens an den Rändern noch einen rötlichen Farbenton zeigt; ein geringer Überschuß von Methylenblau schadet nicht. Das in Alkohol oder mit Hitze fixierte Präparat läßt man durch mehrere, selbst bis 24 Stunden auf der Mischung schwimmen; zu dunkel gewordene Präparate kann man vorsichtig mit sehr stark verdünnter Essigsäure differenzieren. Die Methode ist fast unabhängig von der Art der verwendeten Methylenblau- und Eosinsorte; doch muß aller Alkohol fern bleiben.

Fast gleichzeitig kam Ziemann*) zu der Feststellung, daß bei Zusatz von 2—4% Borax zu der von ihm verwendeten 1%igen Methylenblaulösung schon durch eine Mischung mit vier Teilen 0,1%iger Eosinlösung innerhalb fünf bis höchstens zehn Minuten eine starke Chromatinfärbung zu erzielen sei. c) Ziemann II.

Bisher war man sich über das färbende Prinzip der angewendeten Methode unklar geblieben. Hier setzt nun eine neue aufklärende Arbeit von Nocht**) ein. Er stellt fest, daß im d) Nocht II.

*) Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 24, Nr. 25, 1898.
**) Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 25, Nr. 21 und 22, 1899.

wesentlichen ein rot gefärbtes Zersetzungsprodukt des Methylenblaus, welches sich schon bei längerem Stehen der Lösung bildet, namentlich bei Schimmelbildung, das insbesondere aber durch Behandlung der wässerigen Lösung mit Alkalien bei mäßiger Wärme in großer Menge entsteht, die eigentliche Ursache der Färbung sei. Er nannte den Farbstoff vorläufig „Rot aus Methylenblau“ und gibt als Reaktion zur Prüfung auf sein Vorhandensein und seine Menge das Ausschütteln der Lösung mit Chloroform an, in welches der rote Farbstoff übergeht. Um eine gute Färbung zu erzielen, ist aber neben dem „Rot aus Methylenblau“ das Vorhandensein von Eosin und Methylenblau in der zu verwendenden Farbenmischung notwendig. Sehr stark alkalische Lösungen färben zwar rasch, extrahieren aber nach einiger Zeit wieder den Farbstoff. Das Mischungsverhältnis von Eosin, Methylenblau und Rot aus Methylenblau kann innerhalb der wirksamen Farbenmischungen beträchtlich schwanken; erst bei zu großem Überschuß an einem der Farbstoffe bleibt die spezifische Chromatinreaktion aus. Namentlich schädlich ist ein zu großer Überschuß an Methylenblau.

Eine besonders geeignete Mischung von Methylenblau + Rot aus Methylenblau stellt sich Nocht in folgender Weise dar: Eine 1%ige Methylenblaulösung wird mit 0,5% Natrium carbonicum versetzt und dann durch etwa zweimal 24 Stunden im Thermostaten (Paraffinofen) auf 50—60° erwärmt. Die Lösung ist rein blau gefärbt, enthält aber gerade genug Rot aus Methylenblau, wie sich durch Chloroformauszug feststellen läßt. Mit mehr Alkali versetzte Lösungen, welche rotstichig erscheinen, müssen vor dem Gebrauche mit so viel unzersetzter Methylenblaulösung gemischt werden, bis sie wieder rein blau erscheinen.

Auf Grund dieser Beobachtungen modifiziert jetzt Nocht seine frühere Färbemethode in folgender Weise: Zwei bis drei Tropfen einer 1%igen wässerigen Eosinlösung werden mit 1 bis 2 cm³ Wasser verdünnt. Hiezu setzt man von der alkalischen Methylenblaulösung (mit $^1/_2$% Soda) tropfenweise so viel, bis der Eosinton fast völlig verschwunden ist. Auf dieser Mischung schwimmen die Präparate fünf bis zehn Minuten, werden dann abgespült und eingebettet. Die Mischung ist für jedes Präparat frisch herzustellen. Die Präparate dürfen nicht älter als fünf bis sechs Monate sein.

Dies sind die Grundlagen, auf welchen nun namentlich Hamburger Forscher weiter gebaut haben.

Reuter*) bemühte sich, die für die Chromatinfärbung in Betracht kommende Substanz aus dem alkalischen Methylenblau durch Fällung mit Eosin nach dem Vorgange von Jenner als eosinsaure Verbindung rein darzustellen. Er meint übrigens, daß ein Mittelglied der Umwandlung von Methylenblau in Rot aus Methylenblau das färbende Prinzip darstelle, nicht der rote Farbstoff selbst, eine Meinung, die nach Untersuchungen von Michaelis und von Giemsa als irrig betrachtet werden muß. e) Reuter.

Sein Vorgehen bei der Darstellung der kristallisierten Verbindung des Eosins mit Rot aus Methylenblau ist folgendes: Eine alkalische Methylenblaulösung nach Nocht (mit $^1/_2$% Na_2CO_3) wird mit konzentriertem wässerigem Eosin Höchst ausgefällt. Unter Bildung eines massigen dunkelkarminroten Niederschlages wird die Flüssigkeit hell; zur Sicherung der vollständigen Ausfällung wird ein kleiner Überschuß von Eosin zugesetzt. Der Niederschlag wird auf dem Filter gesammelt und unter Anwendung der Saugpumpe so lange mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Waschwasser nur mehr schwach violett ist. Dann wird der Niederschlag im Exsikkator oder im Thermostaten getrocknet und in heißem absolutem Alkohol auf dem Wasserbade (0,2 : 100) gelöst; dann filtriert man. Um die Stärke der Färbung zu vermehren und ihre Dauer abzukürzen, setzt Reuter auf 100 cm³ der alkoholischen Lösung 2 cm³ Anilinöl zu.

Für die Färbung selbst wird der Farbstoff in der Weise mit destilliertem Wasser verdünnt, daß man auf das in Alkohol fixierte Präparat eine ganz frisch bereitete Mischung von 10 cm³ destillierten Wassers mit 15 Tropfen der alkoholischen Stammlösung gießt. Die Lösung bleibt trotz des großen Wassergehaltes zunächst klar; ganz allmählich aber fällt ein anfangs feiner und später gröber werdender Niederschlag heraus, und währenddessen färbt sich das Präparat. Die Färbung dauert verschieden lange, mindestens eine halbe Stunde, und zwar dies, wenn der Niederschlag ungewöhnlich rasch herausfällt; gewöhnlich dauert sie länger, und zwar bis zu zwei Stunden, wenn der Niederschlag, wie es gefordert wird, sehr langsam erscheint und fein verteilt bleibt. Die Färbeschalen sollen während dieser

*) Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 30, Nr. 6, 1901.

Zeit offen stehen bleiben, da hiedurch (wahrscheinlich durch hineinfallende Stäubchen) das Ausfallen des Niederschlages begünstigt wird. Wenn der Niederschlag (Eosin-Azurverbindung) vollständig herausgefallen ist, erscheint die Flüssigkeit aufgehellt. Solange darf man aber das Präparat nicht in der Färbeflüssigkeit liegen lassen, da sonst eventuell der Farbstoff dem Präparate wieder entzogen wird. Sollte das Präparat nach Ausfallen des ganzen Farbstoffes noch zu wenig gefärbt sein, so muß man es in eine frische Farblösung bringen. Haben sich Niederschläge auf dem Präparate gebildet und stören sie, so kann man sie durch kurze Behandlung mit vollkommen wasserfreiem absolutem Alkohol leicht entfernen. Abspülen, trocknen, einbetten.

Die Präparate sollen für diese Methode frisch und womöglich nicht mit der Feuchtigkeit der Luft längere Zeit in Berührung gestanden sein. Wenn man sie also nicht bald nach der Streichung färben kann, so ist die Aufbewahrung im Exsikkator zu empfehlen.

f) Michaëlis,

Wie schon oben erwähnt, hat L. Michaëlis*) nachgewiesen, daß der wesentliche wirksame Bestandteil aller durch Alkalizusatz aus dem Methylenblau gewonnenen Farblösungen das Methylenazur ist. Es besitzt eine eminente Färbekraft und bedingt auch die metachromatische Färbung der Mastzellengranula bei einfacher Methylenblaufärbung, denn jede ältere Lösung dieses Farbstoffes enthält Azur. In Unnas polychromem Methylenblau ist überhaupt keine Spur von unverändertem Methylenblau vorhanden. Michaëlis gibt auch eine eigene Vorschrift zur Herstellung einer neutralen Lösung von azurhaltigem Methylenblau, welche von Grübler als „Azurblau" bezogen werden kann. Man färbt mit ihr in der Weise, daß man das sehr dünn ausgestrichene Blutpräparat in einer Mischung von einem Teile Azurblau (1%) mit fünf Teilen einer 1‰igen wässerigen Eosinlösung durch eine Viertelstunde liegen läßt. Ohne Differenzierung abspülen, trocknen, einbetten. Bei nicht plattgedrückten Zellen gibt die Färbung mangelhafte Resultate.

g) Giemsa,

Endlich ist es Giemsa**) gelungen, das Methylenazur, dessen eosinsaures Salz auch nach seinen Untersuchungen das ausschließlich färbende Prinzip bei der Romanowskyschen

---

*) Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 29, Nr. 19, 1901.
**) Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 31, 1902.

Methode ist, rein darzustellen, und er empfiehlt für die Färbung folgendes Vorgehen: Es werden 19 cm³ einer 0,5‰igen wässerigen Lösung von Eosin Höchst mit 1 cm³ einer 0,8‰igen wässerigen Lösung von Methylenazurchlorhydrat Höchst gemischt. Färbung durch wenige Minuten. Abspülen in Wasser. Das Methylenazur ist als Azur I bei Grübler erhältlich; als Azur II wird eine Mischung von gleichen Teilen Azur I und Methylenblau medicinale purissimum Höchst geliefert.

Das wäre also im wesentlichen die historische Entwicklung und moderne Ausgestaltung der von Romanowsky angebahnten Methodik. Aber es ist noch lange nicht alles, was darüber zu sagen wäre. Ruge*) z. B. mischt die verdünnten Lösungen eines alkalischen Methylenblaus und des Eosins nicht in fixem Verhältnisse, sondern er bestimmt sich für die in Gebrauch zu nehmenden Lösungen vorher jenes Mischungsverhältnis, bei welchem sofort ein grober Niederschlag ausfällt, und setzt dann für die Vornahme der Färbung von der zur sofortigen Fällung notwendigen Eosinmenge nur den dritten Teil oder die Hälfte zu. Er färbt in der Kälte drei Viertelstunden bis eine Stunde und differenziert zum Schlusse in angesäuertem Wasser (ein Tropfen Essigsäure auf ein Glas Wasser). Löffler**) gibt eine unwesentliche Modifikation der Methode von Giemsa an usw. h) Ruge.

Bemerken muß ich noch, daß in letzter Zeit anstatt der Alkalien zur „Aufschließung" der Methylenblaulösungen Ag O verwendet wird. Nocht***) empfiehlt, sich das Ag O selbst darzustellen, indem man eine Höllensteinlösung mit einem Alkali versetzt; das Silberoxyd fällt als Niederschlag heraus, wird auf dem Filter gesammelt, gewaschen und dann der Methylenblaulösung zugesetzt. Er nimmt den Niederschlag einer Lösung von 1 g Argentum nitricum auf 100 cm³ einer 1%igen Methylenblaulösung. Nach vier- bis fünftägigem Stehen bei Zimmertemperatur ist reichlich Methylenazur gebildet und die Lösung hat eine große Färbekraft. i) Nocht III.

*) Einführung in das Studium der Malariakrankheiten. Jena, G. Fischer, 1901.

**) Die deutsche Klinik am Eingang des 20. Jahrhunderts. Bd. II, Urban & Schwarzenberg, 1903.

***) Enzyklopädie der mikroskopischen Technik. II. Abt, S. 784, Urban & Schwarzenberg, Berlin und Wien, 1903.

Ich habe Ihnen das alles in so ausführlicher Weise mitgeteilt, nicht damit Sie nach allen diesen zum Teile noch unausgereiften Methoden färben, sondern damit Sie die Entstehung des ganzen Gebäudes kennen lernen, sehen, worauf es ankommt, und somit sich aus kleinen Verlegenheiten, in welche einen die unvermeidliche Ungleichmäßigkeit der Farbstoffe und ihrer Lösungen immer bringen kann, selber heraushelfen können. Ich meine nämlich, daß diese Methode von allen Färbungen in der Bluthistologie die größte Zukunft hat.

Auswahl der Methoden für den praktischen Gebrauch:

Für den praktischen Gebrauch möchte ich Ihnen derzeit etwa folgendes empfehlen: Eine der Methoden nach Romanowsky verwenden Sie im allgemeinen zur Blutfärbung vorläufig nicht ohne besonderen Grund. Solche besondere Gründe sind: In erster Linie Malaria, in zweiter Linie Erkrankungen, bei denen im Blute die einkernigen ungranulierten Leukozyten eine besondere Rolle spielen, also vor allem lymphämische und sublymphämische Befunde; denn Lymphozyten und verwandte Zellarten werden nach den in Rede stehenden Methoden glänzend gefärbt. Wo es Ihnen in erster Linie auf Leukozytengranula ankommt, verwenden Sie im allgemeinen diese Methoden nicht, da sie doch noch zu wenig verläßlich sind.

a) Färbung nach Reuter,

Ich selbst verwende seit Jahren für Malariafärbungen fast ausschließlich das A-Methylenblau-Eosin nach Reuter, weil die Färbung bequem und gut ist; nur müssen die Blutpräparate frisch sein. Man bekommt den Farbstoff in absolutem Alkohol gelöst unter dem angeführten Namen bei Grübler. Allerdings sind die Lösungen durchaus nicht gleichwertig. Einmal sehen sie violett aus, einmal fast rein blau; einmal fällt der Niederschlag zu schnell und grob heraus, ein anderes Mal langsam und feinkörnig — kurzum, sie haben eben alle Untugenden, die ein Abkömmling eines so launenhaften Farbstoffes wie Methylenblau nur haben kann; aber in einer Beziehung sind sie gutmütig: das Chromatin färben sie immer, sie färben Kerne, Lymphozyten, polychromatophile und punktierte Erythrozyten schön und gelegentlich einmal als Zugabe auch ganz prächtig die neutrophilen Granula. Die Erythrozyten wechseln in ihrer Färbung außerordentlich je nach der Farblösung: von einem schmutzigen Graurötlich bis zum hellen Eosinton. Ich bemerke noch, daß sich dieselbe Lösung bei längerem Stehen ebenfalls häufig verändert, einmal zu ihrem Vorteil, einmal zum Nachteil.

Ich fixiere die Präparate in gewohnter Weise in Methylalkohol drei bis fünf Minuten, spüle in Wasser ab und überschütte das wieder getrocknete Präparat in einem Schälchen mit der soeben bereiteten Mischung von fünfzehn Tropfen der Farbstofflösung auf 10 cm³ destillierten Wassers. Die Färbung dauert eine halbe bis eine Stunde. Als Indikator dient in gewisser Beziehung der ausfallende Niederschlag. Diejenigen Lösungen, in welchen der Niederschlag rasch ausfällt, färben schnell und zum wenigsten das Chromatin auch gut; doch die übrige Zelldifferenzierung ist oft mangelhaft; sobald sich die Flüssigkeit zu entfärben beginnt, ist es jedenfalls Zeit, das Präparat aus ihr zu entfernen. Dann wird in Wasser abgespült, zwischen Filtrierpapier getrocknet und eingebettet. Es ist gut, wie das für alle Arten der Romanowsky-Färbung gilt, wenn die bestrichene Seite des Präparates nach unten gerichtet ist; natürlich muß es dann hohl liegen.

b) Verfahren nach Romanowsky-Ziemann.

Will man ältere Präparate färben, so ist in erster Linie das Vorgehen nach Ziemann zu empfehlen. Verwendung finden hiefür 1. die auf S. 200 angegebene Eosin BA-Lösung, 2. die alkalisierte Methylenblaulösung 6. — Die Originalvorschrift lautet nun: Vier Teile der Eosinlösung werden mit einem Teile der Methylenblaulösung gemischt und über das in Alkohol fixierte Präparat geschüttet. Färbedauer fünf Minuten. Dann spült man das oben entstandene metallisch glänzende Häutchen im Wasserstrahle weg, damit es nicht mit dem Präparate selbst in Berührung komme, spült gut in Wasser ab und differenziert durch mehrmaliges Eintauchen in sehr stark verdünnte Essigsäure (ein Tropfen Eisessig auf 100 cm³ Wasser) so lange, bis das Präparat rötlich aussieht. Dann wird in Wasser sehr gründlich abgespült, zwischen Filtrierpapier getrocknet und eingebettet.

v. Müllern empfiehlt in gleicher Weise wie früher schon Ruge, wegen der wechselnden Zusammensetzung der Methylenblaulösungen die beiden Farbstoffe nicht in einem von vorneherein fixen Verhältnisse miteinander zu mischen, sondern sich dieses Verhältnis für jede Stammlösung vorher durch den Versuch festzustellen. Man versetzt verdünnte Methylenblaulösungen (z. B. 1 cm³) so lange tropfenweise aus einer graduierten Pipette mit Eosin, bis Fällung auftritt. Dann liest man an der Pipette die gebrauchte Menge von Eosinlösung ab. Für die Färbung verwendet man dann etwas weniger Eosin als zur augenblicklichen

Fällung notwendig war. Außerdem verwendet Müllern gleich Ruge stärker verdünnte Methylenblaulösungen. Er verdünnt die 1%ige Stammlösung noch mit fünf Teilen destillierten Wassers.

Wer am Titrieren keine Freude hat, der kann sich bei Herstellung der Mischungen auf die oben, S. 214, gegebene Vorschrift von Nocht halten und er wird ebenfalls zum Ziele gelangen: Man setzt zu der verdünnten Eosinlösung so lange tropfenweise Methylenblaulösung zu, bis der rötliche Eosinton verschwindet und die Mischung rein blau erscheint. Als Fixationsmittel wird bei uns ausschließlich Methylalkohol verwendet.

In dieser Form ist die Färbung gewiß sehr verläßlich, sie erfordert nur Peinlichkeit in der Ausführung, und — probiert muß man es halt einmal haben, ehe man es trifft. Die Chromatinfärbung ist womöglich noch leuchtender als bei Reuter, die neutrophilen Granula sind regelmäßiger sichtbar, und es werden auch Monate alte Präparate noch erträglich gefärbt.

Die verschiedenen Ausgestaltungen der Färbemethode nach Romanowsky sind trotz der vielseitigen und schönen Bilder, welche sie zu liefern vermögen, doch noch immer nicht imstande, die einfacheren Färbungsmethoden mit Eosin-Methylenblau zu verdrängen.

Jedem sein Recht. Wer mit Eosin-Methylenblau schöne Granulationsbilder und Übersichtspräparate erzielen und rasch zum Ziele kommen will, wird sich immer einer einfacheren Methode bedienen. Als solche kann ich in allererster Linie die von Müllern warm empfehlen. Wer einen sicher guten Farbstoff nach Jenner oder May-Grünwald hat, mag auch diesen verwenden; und manchesmal greife ich noch immer zu der alten, einfachen zweizeitigen Färbung.

Im Anschluß an diese Besprechungen muß ich einiger Färbemethoden einfacherer Art gedenken, für welche nur ein einziger und zwar ein basischer Farbstoff in Verwendung kommt; ich meine

die einfache Methylenblaufärbung und die Mastzellenfärbung.

Da ein basischer Farbstoff allein einwirkt, wird man keine universelle Differentialfärbung erwarten dürfen. Man wird also auch eine derartige Methode nur für ganz bestimmte Zwecke,

welche eben die Hervorhebung und isolierte Darstellung basophiler Gebilde betreffen, in Verwendung ziehen. Tatsächlich sind solche Methoden verwendet worden zur Darstellung der Malariaparasiten, der Polychromatophilie, der basophilen Körnung der Erythrozyten und der Mastzellengranulationen.

Anwendungsweise von wässerigem, alkoholischem und alkalischem Methylenblau.

Für die erstgenannten Zwecke können Sie mit stets gutem Erfolge die verschiedensten Methylenblaulösungen verwenden. So färbt ein 1%iges (oder gesättigtes) wässeriges Methylenblau bei ordentlicher Fixation sowohl Malariaparasiten als die basophile Körnung der Erythrozyten. Ebenso können Sie für diese beiden Zwecke eine verdünnte alkoholische Methylenblaulösung verwenden, indem Sie z. B. von einer 1%igen alkoholischen Lösung etwa dreißig Tropfen auf ein Uhrschälchen mit destilliertem Wasser geben — ganz gleich wie für Bakterienfärbung, nur in etwas höherer Konzentration. Auch dieses Verfahren gibt sowohl bei Fixation mit Methylalkohol als bei einer vorsichtigen Hitzefixation sehr schöne und klare Bilder. In ganz gleicher Weise eignen sich für solche Zwecke auch leicht alkalische Lösungen, wie z. B. das gewöhnliche Löfflersche Methylenblau:

Konzentriertes alkoholisches Methylenblau .	30,0
0,01%ige Kalilauge	100,0

oder aber die folgende von Ruge *) speziell für einfache Malariafärbungen angegebene Lösung: Er versetzt 100 cm³ destilliertes Wasser mit 0,2 g Natrium carbonicum und erhitzt zum Kochen. In die kochende Flüssigkeit wird 0,3 g Methylenblau medicinale purissimum Höchst eingeführt; nach dem Erkalten wird filtriert. Diese Lösung färbt, konzentriert angewendet, in wenigen Augenblicken; man muß sie gleich wieder vom Deckglase spülen. Wenn man besonders schöne Bilder haben will, verdünnt man nach Ruge die Lösung zunächst aufs zehnfache und färbt dann unter leichtem Erwärmen bis zum Aufsteigen der ersten Dämpfe.

Unter Anwendung aller dieser einfach basischen Färbemethoden erscheinen die Erythrozyten bei guter Fixation mehr oder weniger deutlich blaß gelbgrün gefärbt: Im Mischtone der eigenen Farbe und einer ganz geringfügigen Aufnahme von Methylenblau. Die polychromatophilen Erythrozyten erscheinen dann in verschiedener Abtönung blaugrün, die basophile Körnung der Erythrozyten ist dunkelblau gefärbt. In einem mehr stahlblauen

*) A. a. O.

Farbenton erscheinen namentlich bei Verwendung verdünnter alkoholischer oder schwach alkalischer Lösungen die Malariaparasiten. Bei Gebrauch von reinem wässerigen Methylenblau sind auch sie rein dunkelblau gefärbt. Unbrauchbar sind die Präparate, wenn die Erythrozyten farblos erscheinen, was bei ungenügender Fixation eintritt, oder wenn sie, wie bei zu starker Hitzefixation, durchaus dunkelblaugrün gefärbt sind.

Mastzellen-färbung

Ganz anders gestaltet sich bei Anwendung dieser Farblösungen das *Verhalten der Mastzellen*: Obwohl ein basischer Farbstoff einwirkt, zu welchem die Granula hohe Affinität besitzen, erscheinen sie doch im besten Falle sehr mangelhaft, zumeist aber gar nicht gefärbt. Dieses eigentümliche Verhalten haben wir auch bei den Doppelfärbungen mit Eosin und Methylenblau bei der Mehrzahl der Methoden feststellen können; bei vielen Färbeverfahren sind sie ganz farblos geblieben, bei anderen nur teilweise und sehr mangelhaft gefärbt worden, und nur bei jenen zwei Färbemethoden, wo Eosin-Methylenblau einzeitig in rein alkoholischer Lösung zur Anwendung kam, nämlich bei dem Verfahren nach *Jenner* oder *May-Grünwald*, sind die Mastzellen zumeist tadellos erhalten.

Dieses befremdende Verhalten der Mastzellengranulation rührt daher, daß sie sich in Wasser, in wässerigen Farblösungen jeder Art und auch in alkoholischen Lösungen saurer Farbstoffe ungemein leicht löst; nur stark alkoholische basische Farbstofflösungen bringen sie vollkommen unverändert zur Darstellung.

Wenn man also im Blute die Mastzellen tadellos erhalten darstellen will, muß man jede Berührung der Präparate mit Wasser vor der Färbung vermeiden und darf zur Färbung selbst nur eine Lösung eines geeigneten basischen Farbstoffes in mindestens 50%igem Alkohol verwenden. Sowie diese Bedingungen nicht eingehalten werden, bekommt man entweder eine unvollkommene Färbung und teilweise Auflösung, wobei oftmals klumpige, stark basisch gefärbte Kunstprodukte an der Zelloberfläche fremdartige Bilder erzeugen (*Löwits Leukämieparasiten*!), oder der Farbstoff zum Teile in den dann stark und in metachromatischem Tone färbbaren Kern diffundiert; oder man bekommt überhaupt von der Granulationssubstanz selbst nichts mehr zu sehen, sondern an Stelle der Granula finden sich weiße Lücken in dem auch sonst nur spurweise gefärbten Protoplasma, — sogenannte „negative Färbung".

Ich gehe auf das Verhalten der Mastzellen in Geweben, wo sie unter ganz anderen Voraussetzungen zur Färbung gelangen, gar nicht ein. Zur Färbung der Mastzellengranula empfiehlt Weigert insbesondere die violetten basischen Anilinfarben wegen ihrer Fähigkeit zu metachromatischer Färbung. Unter ihnen hat Ehrlich die Dahlialösung bevorzugt. Für praktische Zwecke ist jedoch meines Erachtens die Anwendung eigener Farbstoffe nicht erforderlich, da auch das Methylenblau eine große Affinität zur Mastzellenkörnung hat und dieselbe auch, wenn es nur Spuren von Azur enthält, leicht metachromatisch violett anfärbt.

Die einfachste Methode der Mastzellenfärbung ist demnach die Anwendung von alkoholischem Methylenblau. Ich gehe in der Weise vor, daß ich ein Präparat in Hitze bei 120° oder in Methylalkohol fixiere; dann färbe ich in der auf S. 200 angeführten 1%igen alkoholischen Methylenblaulösung unter sehr vorsichtigem Erwärmen bis höchstens zur ersten Rauchbildung, lasse erkalten, spüle dann außerordentlich rasch in Wasser ab, trockne ebenso rasch zwischen Filtrierpapier und bette ein. Die Mastzellengranula sind leuchtend blau gefärbt, um so deutlicher in einem blauvioletten metachromatischen Farbentone, je deutlichere Spuren von Methylenazur der Farbstoff bereits enthält. Derartige Präparate zeigen zwar erträglich schöne Mastzellen, sind aber sonst nicht gerade instruktiv. a) mit alkoholischem Methylenblau.

Ich verfüge aber noch über eine Mastzellenfärbung *), welche wohl auch den verwöhntesten Ansprüchen genügen kann. Sie beruht ebenfalls auf der Färbung mit alkoholischem Methylenblau, erfährt aber durch Jodnachbehandlung eine ganz wesentliche Verbesserung. Die in der Hitze wie oben fixierten und mit alkoholischem Methylenblau in gelinder Wärme gefärbten Präparate kommen nach kurzem Abspülen auf eine halbe Minute in eine Jod-Jodkaliumlösung von dem Verhältnis 1:2:300. Dann wird wieder rasch abgespült und eingebettet, anstatt in Balsam jedoch in den auch sonst gelegentlich verwendeten Jodgummisirup von der Zusammensetzung: b) mit Methylenblau-Jod.

Jodi puri	1,0
Kalii jodati	3,0
Aq. destillatae	100,0
Gummi arabici q. s.	

bis zur Erreichung von Sirupkonstistenz.

*) Vgl. Türk, Wiener klinische Wochenschrift. 1901, Nr. 18.

Die Mastzellengranula erscheinen bei dieser Färbung sehr scharf begrenzt und tief schwarz gefärbt, die Kerne sind sehr schwach blaß bräunlich, die Erythrozyten erscheinen gelblichgrün, die polychromatophilen Erythrozyten dunkelgrün. Auch die basophilen Erythrozytengranula sind deutlich sichtbar, die Kerne von Erythroblasten dunkelbraun; die neutrophilen und eosinophilen Granula sind nur spurweise gelblich durch Jod gefärbt.

Diese Methode, welche sich mir in dem seinerzeitigen Streite um die Leukämieparasiten Löwits in die Hand gespielt hat und auf dessen angeblich spezifischem Parasitenfärbeverfahren beruht, liefert nicht nur die unvergleichlich schönsten Mastzellenbilder, sondern läßt auch so viele andere Dinge in einem gefälligen Gesamtbilde zum Vorschein kommen, daß ich jedenfalls diese Methode allen anderen Mastzellenfärbungen unbedingt und weitaus vorziehe.

Im Anschluß an diese Besprechung der einfachen basischen Färbungen noch eine kurze Bemerkung.

Methylgrün-Pyroninfärbung.

Pappenheim hat zum Zwecke einer differenzierenden basischen Färbung ein Pyronin-Methylgrüngemisch (wässerige Lösungen annähernd im Verhältnisse 1:2 gemischt) eingeführt, also ein Gemenge von zwei Farbbasen, welche jedoch für verschiedene basophile Gewebselemente verschiedene Affinitäten besitzen. Das Methylgrün färbt nur die Kerne, mit Pyronin werden die protoplasmatischen Zellteile rot, die Mastzellen gelb gefärbt. Praktische Bedeutung hat diese Färbung nicht gewonnen, ich begnüge mich also damit, sie erwähnt zu haben.

Sehr kurz kann ich mich nun im Gegensatze zu den in außerordentlicher Entwicklung begriffenen Eosin-Methylenblaufärbungen über die weiteren in der praktischen Hämatologie noch in Verwendung stehenden Methoden äußern: Sie sind gewissermaßen stationär.

Am nächsten schließt sich an die

Doppelfärbung mit Eosin-Hämatoxylin.

Es handelt sich hier im Gegensatze zu den bisher besprochenen substantiven Färbungen um ein adjektives Verfahren; das an sich schwach saure Hämatoxylin und seine Oxydations-

produkte werden durch Behandlung mit einer Base, als welche gewöhnlich Aluminium in der Form des Alauns Verwendung findet, in „Farblacke" übergeführt, welche sich nun wie ein basischer Körper verhalten und eine ganz besonders große Affinität zur Nukleinsäure der Kerne besitzen, während die meisten anderen basophilen Substanzen beträchtlich schwächer gefärbt werden. Wir haben im Hämatoxylin wohl das glänzendste Kernfärbemittel; und auch nur diese seine Eigenschaft rechtfertigt seinen Gebrauch in der Blutfärbung.

Farbstofflösungen.

Die zur Färberei in Verwendung kommenden Alaun-Hämatoxylinlösungen sind durchaus inkonstant und unberechenbar zusammengesetzte Gemische, welche ihre Färbekraft erst der Oxydation des Hämatoxylins zu Hämatein und der Verbindung dieses letzteren mit Alaun verdanken. Bei zu langem Stehen oxydiert sich auch ein verschieden großer Teil des Hämateins weiter und bildet wieder färberisch unbrauchbare Verbindungen. Ich schicke das voraus, damit Sie nicht zürnen, wenn irgend eine Flasche einer Hämatoxylinlösung nicht gerade gut oder eine andere überhaupt gar nicht zu brauchen ist. Eine wirklich gute Lösung ist unschätzbar, sie vermag die entzückendsten Bilder zu liefern. Es empfiehlt sich bei der Langwierigkeit des Verfahrens nicht im mindesten, sich die Farblösungen selbst herzustellen. Grübler liefert sie in einem fast immer brauchbaren Zustande.

Vorzüge und Mängel der Methode.

Praktisch werden Sie das Hämatoxylin in Doppelfärbungen dort anwenden, wo es Ihnen vor allem auf die Kerne ankommt oder auf Zellen, bei denen die Kernstruktur das kennzeichnendste Merkmal ist. Die neutrophilen Granula sind bei den Hämatoxylin-Doppelfärbungen fast stets vernichtet, man kann höchstens in vorher lange gelegenen Präparaten eine unscheinbare Andeutung davon wahrnehmen. Die eosinophilen Granula werden an sich nicht wesentlich geschädigt, aber bei Nachfärbung mit Hämatoxylin kommt es häufig vor, daß der bereits aufgenommene saure Farbstoff, als welcher ja fast ausschließlich Eosin Verwendung findet, in einem wechselnden, manchmal auch recht beträchtlichen Grade durch die Alaun-Hämatoxylinlösung wieder extrahiert wird. Dann verlieren die Granula ihr leuchtendes Rot und sind schwer zu differenzieren. Besonders schön werden mittels Hämatoxylin die Lymphozyten und die anderen normalen oder pathologischen ungranulierten Leukozytenarten dargestellt,

ebenso die kernhaltigen Erythrozyten; nur die Polychromatophilie der letzteren kommt schlecht zum Ausdrucke.

Ausführung der Färbung

Das Färbeverfahren gestaltet sich etwas verschieden, je nach der Lösung, welche Verwendung findet. Als konstanter und verläßlicher gilt im allgemeinen das saure Hämatoxylin von Ehrlich, dessen Zusammensetzung auf S. 201 unter 8 wiedergegeben ist. Es empfiehlt sich im allgemeinen, mit diesem Farbstoff vorzufärben; dann genügt eine verhältnismäßig kurze Nachfärbung mit Eosin. Mit dem Delafieldschen Gemische färbt man besser nach.

Im besonderen ist das Vorgehen bei beiden Färbungen das folgende:

a) mit saurem Hämatoxylin nach Ehrlich,

1. Fixation in Methylalkohol drei bis fünf Minuten; abspülen. Einlegen in eine sehr gut (am besten durch doppeltes Filter) filtrierte Lösung von Ehrlichs saurem Hämotoxylin durch zehn bis fünfzehn Minuten. Abspülen in Wasser, gut trocknen. Einlegen in $^1/_2$%ige alkoholische Eosinlösung auf eine bis drei Minuten, je nach der gewünschten Färbungsstärke. Abspülen, trocknen, einbetten. Präparate mit schlecht färbbaren Zellen (lymphämisches Blut) kann man auch eine Stunde in der Hämatoxylinlösung liegen lassen.

b) mit Hämatoxylin Delafield,

2. Fixation wie oben; ohne abgespült zu werden kommen die Präparate in die $^1/_2$%ige alkoholische Eosinlösung und bleiben drei bis fünf Minuten darin, je nach der gewünschten Färbungsstärke und nach dem Hämoglobingehalte des untersuchten Blutes. Dann abspülen und sehr gut trocknen; leichtes Erwärmen über der Flamme ist zu empfehlen. Einlegen in das sehr sorgfältig, am besten mehrmals filtrierte Delafieldsche Hämatoxylin auf drei bis fünf Minuten. Abspülen, trocknen, einbetten.

Wenn man mit Ehrlichs Hämatoxylin nachfärben will, was auch geht, so muß man den Farbstoff etwa doppelt so lange wie die Delafieldsche Lösung einwirken lassen. Ich betone in beiden Fällen das Filtrieren so lebhaft, weil einem sehr gerne die schönsten Präparate durch scheußliche Verunreinigungen aus dem Farbstoffe verleidet werden.

Die Färbungen eignen sich ganz besonders zur Darstellung der Lymphozyten, werden also in allen Fällen, wo derartige Zellen eine dominierende Rolle spielen (Lymphozytosen, Lymphämien), in allererster Linie in Betracht kommen. Sie sind jedoch auch zu Übersichtsfärbungen vorzüglich geeignet. Wenn man gleich

die neutrophile Granulation nicht sieht, so erkennt man doch jede neutrophile Zelle an ihren sonst so sehr ausgeprägten Charakteren im Augenblicke.

Ehrlichs Eosin-Hämatoxylingemisch.

Ehrlich hat seine Hämatoxylinmischungen auch mit einer geringen Menge von Eosin versetzt und färbt mit dieser (auf S. 201 in ihrer Zusammensetzung erwähnten) Flüssigkeit einzeitig. Die Färbung nimmt jedoch mindestens eine bis drei Stunden Zeit in Anspruch und bietet vor den viel kürzer dauernden zweizeitigen Methoden keine Vorteile. Sie ist daher zum praktischen Gebrauche nicht zu empfehlen.

Hämatoxylin-Pikrinsäure.

Gelegentlich einmal kann man als saure Farbe nach Hämatoxylin anstatt des Eosins auch die Pikrinsäure verwenden. Auch diese Zusammenstellung gibt ganz schöne Bilder. Man färbt in einem der Hämatoxyline durch lange Zeit (eine halbe bis eine Stunde) vor und behandelt nach dem Abspülen mit gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung durch höchstens eine halbe Minute. Durch diese lang andauernde Hämatoxylinfärbung sind einesteils die Kerne wundervoll scharf, anderenteils sind sogar Polychromatophilie und basophile Körnung der Erythrozyten gut zu sehen.

Die letzte, praktisch im höchsten Grade wichtige Färbemethode ist die

Färbung mit Ehrlichs Triazid.

Zusammensetzung des Farbstoffes.

Das „Triazid“ ist ein kombiniertes neutrales Farbengemisch, zusammengesetzt aus zwei sauren und einem basischen Farbstoffe in gesättigter wässeriger Lösung. Als saure Farbstoffe werden Orange G (gelb) und Fuchsin S (rot) verwendet, als basischer Farbstoff wird Methylgrün zugesetzt. Es bilden sich in diesem Farbengemische jedenfalls zwei neutrale Körper nebeneinander: Die salzartigen Verbindungen der sauren Farbstoffe mit dem Methylgrün. — Dieses letztere hat drei basische Haptophore, welche alle drei durch die Verbindung abgesättigt sind; daher der von Ehrlich gewählte Name Triazid. Die neutralen Farbkörper bleiben in einem Überschusse sauren Farbstoffes, hier speziell des Säurefuchsins, gelöst.

Zur Herstellung der Stammlösungen müssen zunächst vollständig chemisch reine Farbstoffe verwendet werden. Solche

werden in kristallisiertem Zustand von der Berliner Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation hergestellt und sollen direkt von dort bezogen werden. Man erzeugt sich zunächst gesättigte wässerige Lösungen der drei Farbstoffe, wobei auf 100 cm³ destillierten Wassers von Fuchsin S beinahe 25 g, von Methylgrün und Orange G mehr als 8 g erforderlich sind. Die Lösungen müssen unter wiederholtem Umschütteln mindestens tagelang stehen und zum Schlusse noch immer einen ungelösten Bodensatz aufweisen. Anstatt des Fuchsin S kann auch Rubin S verwendet werden.

Bereitungsvorschrift nach Ehrlich.

Diese Stammlösungen werden sodann nach Ehrlichs letzter Vorschrift unter Beimischung der im folgenden ersichtlichen Zusätze in der angegebenen Menge und Reihenfolge miteinander gemischt, und zwar mit Hilfe eines und desselben kleinen graduierten Meßzylinders.

Orange G	13—14	cm³
Säurefuchsin	6—7	„
Aq. destill.	15	„
Alkohol (absol.)	15	„
Methylgrün	12,5	„
Alkohol (absol.)	10	„
Glyzerin	10	„

Vom Zusatze des Methylgrüns an ist nach Ehrlichs Vorschrift die Flüssigkeit gründlich zu schütteln. Die Mischung erhält sich sehr lange Zeit unverändert brauchbar.

Ich möchte Ihnen, meine Herren, nicht gerade sehr empfehlen, Befriedigung Ihres färberischen Ehrgeizes in der Herstellung einer Triazidlösung zu suchen. Sie würden schlecht auf Ihre Rechnung kommen. Ich habe es allerdings selbst schon viele Jahre nicht mehr versucht, aber ich erinnere mich noch mit Grauen daran, wieviel Zeit ich ehedem auf solche Experimente verwendete. Und trotz aller Mühe gelang es mir nicht, irgend ein Triazid herzustellen, das allen Anforderungen entsprochen hätte. Wahrscheinlich wohl deshalb, weil mir damals nicht genug reine Farbstoffe zur Verfügung standen. Unter allen Umständen ist es eine mühselige Arbeit. Wir sind dagegen in der angenehmen Lage, von Grübler ein Triazid zu bekommen, das den meisten Ansprüchen zu genügen vermag, manchmal sogar wirklich ideale Granulationsfärbungen gibt. Es hat nur zumeist noch einen Nachteil, der sich wohl auch beseitigen ließe: Wenn

Grüblers Triazid.

die Fixation nicht ganz tadellos ist, entstehen auf den Kernen vielfach Niederschläge, welche offenkundig doch immer noch von einer Verunreinigung des Kernfarbstoffes, also des Methylgrüns, herrühren. Sie können einem wirklich manchmal die Freude an einem sonst prächtigen Präparate verderben. Ich empfehle Ihnen dennoch, Ihre Triazide von Grübler zu beziehen; vielleicht wird dieser letzte Mangel mit der Zeit doch auch noch verschwinden.

Ein gutes Triazid ist ein ganz unschätzbarer Farbstoff, der allerdings auch eine sorgsame Behandlung verlangt. Im Laufe der Zeit entstehen doch immer Niederschläge in ihm, wenn auch in geringer Menge, und man soll sich hüten, sie in der Flüssigkeit aufzuschwemmen. Man muß es also unbedingt vermeiden, das Triazid zu schütteln oder die Flasche zu stürzen usw. Ist einmal unvorsichtigerweise ein Mißgriff geschehen, so soll der Farbstoff einige Tage wieder in völliger Ruhe stehen bleiben, ehe er neuerlich verwendet wird. Entsprechend diesem Gebote muß auch bei der Färbung selbst vorsichtig zu Werke gegangen werden. Man nimmt am besten zur Färbung einige Tropfen mitten aus der Farbstofflösung heraus, ohne auszuschütten, also mit Hilfe einer ja nicht bis auf den Boden reichenden kleinen Pipette oder mit Hilfe eines Glasstabes. Am einfachsten ist es, wenn man das Fläschchen mit einem durchbohrten Pfropfen verschließt, in dessen Öffnung ein Tropfröhrchen mit Kautschukkappe so angebracht ist, daß dessen Spitze gerade in die Mitte der Flüssigkeit reicht. Behandlung des Farbstoffes.

Der Vorgang bei der Färbung ist der folgende: Das mittels Hitze fixierte Präparat wird in eine Cornetsche Pinzette geklemmt und wagrecht aufgestellt; dann entnimmt man mit dem Tropfröhrchen oder einem Glasstabe einige (drei bis vier) Tropfen aus der Mitte der Triazidlösung, verteilt sie über dem Präparate auf dem Deckglase und läßt die Farbe etwa fünf Minuten einwirken. Sodann wird in Wasser abgespült, zwischen Filtrierpapier getrocknet und eingebettet. Die Farbstofflasche ist sofort wieder zu verschließen und an ihren geschützten Aufbewahrungsort zu bringen. Ausführung der Färbung.

Das Allerwichtigste für das Gelingen einer Triazidfärbung ist neben einem brauchbaren Farbstoff eine gute Fixation. Gut aber ist nach meiner Erfahrung immer nur die Hitzefixation, und zwar diese eben Bedeutung der Fixation für das Gelingen der Färbung.

auch nur, wenn sie besonders genau durchgeführt wurde. Ich verweise diesbezüglich im allgemeinen auf das früher im Kapitel „Fixation" Gesagte und bemerke nur nochmals, daß für die käuflichen Triazidlösungen eine starke Fixation erforderlich ist, im Mittel etwa 135—136° durch zehn bis fünfzehn Minuten oder 148—150° einen Augenblick. Ist die Fixation richtig getroffen, so erscheinen die Erythrozyten orange mit höchstens einem spurweisen Rosastich, die Kerne sind blaßgrün bis schmutzigblau, die Lymphozytenleiber sind gelbrötlich in verschiedener Abtönung, ebenso die großen einkernigen Leukozyten; die polymorphkernigen Zellen heben sich von diesem Hintergrunde durch ihre stark gefärbte Granulation sehr lebhaft ab; die neutrophile Körnung ist sehr distinkt in kräftigem Rotviolett gefärbt, die eosinophilen Granula schwanken in ihrer Färbung beträchtlich, zwischen orange und kupferfarben, und glänzen zumeist nur schwach. Die Mastzellengranula sind farblos.

Eine gut gelungene Triazidfärbung gibt ein prächtiges Gesamtbild und vor allem eine unvergleichlich schöne Darstellung der neutrophilen Granulation. Ihr zuliebe wird die Färbung ja eigentlich auch ausschließlich verwendet; in dieser Hinsicht aber kann wirklich keine andere mit ihr in Konkurrenz treten. Verhältnismäßig blaß gefärbt sind die Kerne, auch die an sich chromatinreichsten. Aus diesem Grunde treten auch die ungranulierten Leukozyten, deren Protoplasma ebenfalls keinen geeigneten Farbstoff zu wirksamer Hervorhebung findet, zumeist nur sehr schwach hervor und könnten wenigstens zu einem Teil von einem unachtsamen Beobachter leicht übersehen werden. Darauf ist also immer Rücksicht zu nehmen.

Schlechte Fixation, sei sie nun zu niedrig, sei sie zu hoch gewesen, beeinträchtigt die Klarheit und Übersichtlichkeit der Bilder ganz außerordentlich. Bei zu niedriger Fixation sind die Erythrozyten mehr und mehr im roten Fuchsintone gefärbt, erscheinen also viel dunkler, und die ebenfalls rötlich granulierten Leukozyten heben sich wenig von ihnen ab, um so weniger, als hiebei öfter auch die Granulationsfärbung gelitten hat. In zu hoch fixierten „verbrannten" Präparaten zeigen die Erythrozyten einen unangenehm eigelben Farbenton und eine im ganzen mehr schattenhafte Färbung; die Kerne sind zwar rein grün, aber besonders schwach gefärbt, die Granula der weißen Blutkörperchen oftmals auch nur mehr unvollständig differenziert.

Immerhin kann man die Leukozyten in solchen Bildern noch besser beurteilen als die Erythrozyten.

Um die Schwierigkeiten der peinlichen Hitzefixation zu umgehen, hat man sich immer wieder bestrebt, auch für das Triazid eine geeignete chemische Fixation einzuführen. Aber es ist bisher nicht gelungen, einen vollgültigen Ersatz dafür zu schaffen. Man bekommt ja schließlich bei Vorbehandlung mit absolutem Alkohol oder namentlich bei etwas längerer Fixation in Methylalkohol auch brauchbare Bilder, in denen man das Notwendige erkennt. Aber sehr klar sind sie nicht; die Färbung der neutrophilen Granulation leidet an Schärfe und ebenso zumeist auch jene der Erythrozyten. Nur selten habe ich ein wirklich befriedigendes Bild gesehen.

Pappenheims panoptisches Triazid.

Pappenheim*) war bestrebt, der mangelhaften Kernfärbung des Triazids dadurch zu steuern, daß er an Stelle des schwach färbenden und dabei fast ausschließlich zum Kernchromatin Affinitäten zeigenden Methylgrüns als basischen Farbstoff Methylenblau, beziehungsweise Methylenazur einführte; auch wird anstatt des Säurefuchsins Eosin verwendet. Pappenheim selbst glaubt zwar, daß dieses „panoptische" Triazid allen Anforderungen entsprechen werde, andere aber scheinen nicht die gleichen guten Erfahrungen damit gemacht zu haben, denn es hat sich nicht eingebürgert. Ich selbst habe mit dem von Grübler in Lösung bezogenen „Triazid nach Pappenheim" niemals eine nur überhaupt halbwegs kenntliche Kernfärbung und nie eine so schöne Granulationsfärbung wie mit Ehrlichs Triazid bekommen. Es mögen auch da Kleinigkeiten in der Handhabung der Färbung die Schuld tragen — aber es ist wohl schwer, das Richtige zu treffen, da nirgends eine genaue Vorschrift gegeben ist.

Die Haltbarkeit der Triazidpräparate scheint sehr verschieden zu sein. Während ich Präparate besitze, die nach mehr als drei Jahren zwar bläßer, aber noch immer gut differenziert sind, erscheinen ein andermal die Zellen und namentlich die Granula schon nach einem Jahre hochgradig verblaßt. Es scheint dabei der höhere oder geringere Xylolgehalt (oder Säuregehalt?) des Balsams mit eine Rolle zu spielen.

Die modernen Eosin-Methylenblau-Färbemethoden, welche auch das Bestreben haben, die neutrophilen Granula hervor-

*) Deutsche medizinische Wochenschrift. 1901, Nr. 46.

zuheben, fangen allmählich an, dem Triazid gefährlich zu werden. Vielleicht sind sie einmal imstande, es zu verdrängen. Vorläufig erscheint es zur tadellosen Darstellung der neutrophilen Granulation noch immer weitaus am geeignetsten und seine Anwendung ist deshalb nicht wohl zu umgehen.

Ich muß nun endlich im Anschluß an die Besprechung der Färbungen zweier Untersuchungsmethoden Erwähnung tun, welche als Farbenreaktionen sich der Besprechung der eigentlichen Färbungen wohl am ungezwungensten anreihen. Zuerst ein Wort über die

Jodreaktion der Leukozyten.

Auf dieselbe ist schon vor langer Zeit von Ehrlich und von Gabritschewski hingewiesen worden. Sie behandelten einfach lufttrockene, nicht fixierte Präparate mit Jodgummisirup von der auf S. 223 angegebenen Zusammensetzung. Die normalen Leukozyten bleiben bei dieser Behandlung rein hellgelb. Unter pathologischen Verhältnissen aber zeigen sich nach einigen Minuten im Protoplasma mancher oder auch sehr vieler polymorphkerniger Leukozyten braun gefärbte Schollen, welche auf Glykogen bezogen werden. Nach den Ergebnissen der letzten hierauf bezüglichen Untersuchungen macht es den Eindruck, daß die jodophile Substanz nicht durch freies Glykogen, sondern durch eine lockere Eiweißbindung desselben dargestellt wird.

Ehrlich und Lazarus*) empfehlen als besseres Verfahren zur Darstellung dieser Reaktion das Einbringen des einfach lufttrockenen Präparates in ein wohlverschlossenes, auf dem Boden Jodkristalle enthaltendes Gefäß. Durch die sich entwickelnden Joddämpfe wird das Präparat in kürzester Zeit (schon nach wenigen Minuten) braun gefärbt; man bettet es dann in eine sirupdicke Lävuloselösung ein und umschließt es zur Aufbewahrung mit Asphaltlack.

Bei dieser Behandlung tritt die Reaktion klarer hervor, weil nicht eine so dunkelgelbe Einbettungsflüssigkeit verwendet ist, wie sie der Jodgummisirup darstellt.

Eine weitere Ausgestaltung der Methode, welche sie zugleich besonders empfindlich macht, rührt von Zollikofer

*) Die Anämie. Nothnagels Handbuch, 8. Bd., I. Abt.

her: Er läßt die Joddämpfe auf das ganz frische, noch feuchte Blutpräparat einwirken und untersucht möglichst rasch unter dem Mikroskop. Bei diesem Vorgehen findet sich auch in normalen Leukozyten eine Glykogenreaktion. Nach Wolff*) verschwindet sie aber wieder sehr rasch, wohl deshalb, weil das Glykogen der normalen Leukozyten sehr leicht wasserlöslich ist; unter den pathologischen Verhältnissen, welche nach den früheren Methoden eine Glykogenreaktion bedingen, dürfte also das Glykogen schwerer wasserlöslich geworden sein.

Die „Jodophilie" der Leukozyten hat in letzter Zeit eine gewisse Bedeutung gewonnen, da man sie in höherer Ausbildung namentlich bei entzündlichen Leukozytosen, insbesondere auch bei Eiterungen, nachweisen konnte und ihr gerne einen diagnostischen Wert zuschreiben wollte. Es handelt sich aber gewiß um ein unter ganz außerordentlich verschiedenen Umständen vorkommendes Symptom, dessen differentialdiagnostische Deutung daher wohl die größte Vorsicht erfordern wird.

In den letzten Jahren hat zuerst Brandenburg**) darauf aufmerksam gemacht, daß ebenso wie das Blut im ganzen und der Eiter, so auch das leukämische Blut und das rote Knochenmark eine

Reaktion mit Guajaktinktur

zu geben vermögen. Die allbekannte Blaufärbung mit Guajaktinktur tritt bei Anwesenheit von Blut zunächst nur dann deutlich auf, wenn ozonisiertes altes Terpentinöl oder aber Wasserstoffsuperoxyd vorhanden ist. Reiner Eiter jedoch zeigt schon mit Guajaktinktur allein eine flüchtige Blaufärbung, also auch ohne Oxydationsmittel, und ebenso wie der reine Eiter verhält sich nach Brandenburg das leukämische Blut und das rote Knochenmark. Adenoides Gewebe und Lymphozyten sollen dagegen die Reaktion nicht geben.

Nachprüfungen haben ergeben, daß höchstwahrscheinlich jedes Blut und jedes Knochenmark diese Reaktion gibt, aber in außerordentlich verschiedenem Grade, und dieser Grad ist abhängig von dem Gehalte an neutrophil granulierten Zellen, welche die Träger der Reaktion sind. Ob auch die „großen Lympho-

*) Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. 51, Heft 5 und 6, 1903.

**) Münchener medizinische Wochenschrift. 1900.

zyten" die Reaktion zu geben vermögen, wie St. Klein*) meint, bedarf wohl noch der Bestätigung. Meyer**) nimmt an, daß ein oxydierendes Ferment der Leukozyten das Auftreten der Reaktion ohne Beigabe eines Oxydationsmittels ermöglicht. Erforderlich ist die Gegenwart von Wasser. Doch scheint andererseits das Ferment ziemlich leicht ganz in das Wasser überzugehen; denn wenn man einige Tropfen Blut mit Wasser verdünnt, dann filtriert und wäscht, so gibt der Filterrückstand keine Guajakreaktion mehr, wenn nicht besonders viele Leukozyten vorhanden waren.

Klein empfiehlt deshalb folgendes Vorgehen zur Darstellung der Reaktion: Er verdünnt mehrere Tropfen Blut mit einigen Kubikzentimetern Wasser, mischt und zentrifugiert sofort oder nach 24 Stunden. Dann wird die Flüssigkeit abgegossen, der Rückstand auf ein trockenes Filtrierpapier gebracht und auf diesem mit einem oder zwei Tropfen Guajaktinktur befeuchtet. So angestellt, fällt die Reaktion immer positiv aus, auch bei sehr niedrigem Gehalte des Blutes an Neutrophilen. Natürlich ist sie dann unendlich viel schwächer als bei starker Leukozytose oder gar bei myeloider Leukämie.

Praktischen Wert hat die Reaktion bislang noch nicht gewonnen.

---

*) St. Klein: Folia hämatologica. 1904, Nr. 2.

**) Beiträge zur Leukozytenfrage. Münchener medizinische Wochenschrift. 1903, Nr. 35.

9. Vorlesung.

(Normale und pathologische Histologie der roten Blutkörperchen.)

Nachdem ich Ihnen nunmehr in allen wesentlichen Punkten die Methoden der klinischen Blutuntersuchung vorgeführt habe, gehe ich zu einem zweiten großen Kapitel über, zur Besprechung der normalen und pathologischen Histologie des Blutes.

Es ist dies jenes Gebiet, welches auch heute noch die klinische Hämatologie beherrscht, wenngleich in den letzten Jahren die wissenschaftliche Serumforschung — wiederum, wie seinerzeit die morphologische Hämatologie, von Ehrlich flügge gemacht und ausgestaltet — immer weitere Kreise zieht und allmählich in ihren praktischen Folgerungen auch an den Kliniker herantritt. Immerhin bleibt die Nutzbarmachung ihrer Errungenschaften für die Klinik und die praktische Medizin überhaupt eine Aufgabe für die Zukunft, allerdings vielleicht für eine nahe Zukunft.

Das ganze Gebäude der Morphologie des Blutes ist erst durch die farbenanalytischen Untersuchungen Ehrlichs auf einen festen Boden gestellt worden, und sein auf diesen Forschungen aufgebautes System ist heute noch ebenso wie vor einem Dezennium die feste Grundlage aller unserer diesbezüglichen Kenntnisse. Wenn allerdings Ehrlich schon vor einigen Jahren meinte, die Lehre von der Morphologie des Blutes und der blutbereitenden Organe sei dermalen bis zu einem gewissen Abschlusse gediehen, so scheint er darin ein wenig geirrt zu haben. Es vergeht fast kein Jahr, wo nicht doch irgend eine neue Auffassung sich Bahn bricht und einen Teil unserer bisherigen Anschauungen über den Haufen zu werfen droht, und es unterliegt meines Erachtens wohl keinem Zweifel, daß doch schließlich manche Säule der Ehrlichschen Anschauungen ins Wanken kommen wird. Diese Erkenntnis kann aber ohne Frage das Verdienst Ehrlichs nicht im allermindesten schmälern — im Gegenteile, sie beweist uns, daß es ein auf lange Zeit hinaus

Allgemeines.

fruchtbringendes Feld war, das er unserer Erkenntnis erschlossen hat, und bei jeder neuen Errungenschaft müssen wir seiner gedenken, weil sie ohne ihn nicht möglich geworden wäre.

Es hat sich nun in den letzten fünf Jahren seit dem Erscheinen der maßgebenden Bearbeitung der Hämatologie durch Ehrlich und seine Schüler in dem Nothnagelschen Handbuche eine außerordentlich lebhafte literarische Tätigkeit auf unserem Gebiete entwickelt, und es ist von vielen Seiten mit mehr oder weniger Glück und Berechtigung der Versuch unternommen worden, namentlich an den Anschauungen Ehrlichs über den Zusammenhang der einzelnen zelligen Elemente des Blutes und der blutbereitenden Organe zu rütteln und neue Hypothesen an Stelle dieser Anschauungen zu setzen. Dadurch haben sich vielfach die Begriffe, die im Jahre 1898 so einfach und klar zu sein schienen, wesentlich verschoben, und es ist in mancher Hinsicht ein heilloser Wirrwar der Anschauungen eingetreten, der einer klaren Übersicht, namentlich für den selbst nicht ausnehmend Erfahrenen, schwere Hindernisse bereitet.

Sie werden es mir daher wohl verzeihen, wenn ich Ihnen im folgenden vor allem meine individuellen Anschauungen zum Ausdrucke bringe und Sie auf das, was hypothetisch ist, unter gleichzeitigem Hinweis auf etwaige andere Meinungen aufmerksam mache.

Ich fuße in meiner Betrachtung und Auffassung der zelligen Elemente des Blutes und des Zusammenhanges ihrer einzelnen Formen untereinander vor allem auf der sorgfältigsten Beobachtung des Blutes selbst unter allen mir zugänglichen pathologischen Verhältnissen und unter Zuhilfenahme der verschiedenen klinisch brauchbaren, vorwiegend färberischen Differenzierungsmittel. Ich darf mir wohl in dieser Hinsicht bei der jahrelangen Tätigkeit auf diesem Gebiete eine gewisse Erfahrung und eine gewisse Schulung des Blickes zuerkennen, ohne daß man mich dessenthalben der Unbescheidenheit zeihen dürfte.

Und meines Erachtens sind im Blute erhobene Befunde eines erfahrenen Beobachters auch für die Beurteilung der Verhältnisse in den blutbereitenden Organen nicht zu mißachten. Denn es besteht ein großes Mißverhältnis zwischen den Mitteln und Feinheiten des Beobachtungsverfahrens im Blutpräparate einerseits und andererseits im Knochenmarkschnitt oder im Knochenmarkausstrichpräparate. Dort geradezu ideale Verhält-

nisse für die feinste Detailbeobachtung und Differenzierung, hier aber Schwierigkeiten über Schwierigkeiten, die tadellos zu überwinden bisher noch keinem Verfahren geglückt ist. Könnten wir die Histologie der blutbereitenden Organe an so einwandfreien Präparaten mit so feinen Methoden studieren wie die Histologie des strömenden Blutes, so wäre wohl längst heute kein Zweifel mehr über irgend eine Frage der Blutzellenentwicklung. So aber vertritt noch jeder Forscher seine eigene Meinung, jeder führt seine eigenen Namen ein, und schließlich ist es beinahe so weit gekommen, daß man bei gar vielen Bezeichnungen den Namen des Autors beifügen muß, um kenntlich zu machen, was man darunter verstehen will, weil verschiedene Autoren dieselben Namen in ganz verschiedenem Sinne gebrauchen.

Meine Auseinandersetzungen werden, um nach Möglichkeit alle Unklarheiten zu vermeiden, von den Anschauungen Ehrlichs ausgehen, wie ich ja auch bis auf wenige Punkte in meiner Auffassung mit ihm im wesentlichen übereinstimme. Ich wiederhole nochmals, daß ich nicht eine erschöpfende literarische Zusammenstellung aller gerade in den letzten Jahren ausgesprochenen Meinungen liefern will — dafür würden Sie mir wenig Dank wissen — sondern daß ich mich bemühen will, Ihnen zunächst die tatsächlich obwaltenden Verhältnisse im zirkulierenden Blute vorwiegend nach meinen eigenen Erfahrungen zu schildern, um erst im Anschlusse an sie, und jetzt auch unter Berücksichtigung der verschiedenen neueren histologischen Arbeiten, mich über den Zusammenhang der vorher möglichst objektiv geschilderten zelligen Elemente untereinander und mit den von verschiedenen Seiten erhobenen Befunden in den blutbereitenden Organen übersichtlich zu äußern.

Das erste Gebiet, das uns also zu erörtern obliegt, betrifft

die normale und pathologische Histologie der roten Blutkörperchen.

Ich habe vieles aus diesem Gebiete schon bei der Besprechung der Untersuchungsmethoden, insbesondere im Kapitel „Nativpräparat“ in Kürze abgehandelt, und werde mich mit einer summarischen Wiederholung der dort gemachten Angaben begnügen, um mich dann mit dem noch nicht Besprochenen um so ausgiebiger beschäftigen zu können.

Eigenschaften der normalen Erythrozyten.

Die Erythrozyten des normalen Blutes — im Mittel 5,000.000 im Kubikmillimeter, bei gesunden kräftigen Männern oft mehr, bis gegen 6,000.000, beim geschlechtsreifen Weibe manchmal etwas weniger — sind bikonkave Scheiben mit einem mittleren größten Durchmesser von etwa $7^1/_2$—$7^3/_4$ μ. Doch schwankt dieses Maß schon im normalen Blute innerhalb mäßiger Grenzen; wir dürfen wohl 6 μ nach unten, 9 μ nach oben als die Endwerte der normal vorkommenden Größenschwankungen ansehen, doch nähern sich diesen Werten nur wenige Prozente der Zellen; weitaus die Mehrzahl hat zwischen 7 und 8 μ Durchmesser. Die bikonkave Scheibenform bringt es mit sich, daß der mittlere Teil der Scheibe bei flächenhafter Betrachtung heller erscheint: die Delle, während ringsum ein breiter Saum dickeren, mit Hämoglobin dichter erfüllten Protoplasmas im frischen Zustande in der Eigenfarbe des Blutfarbstoffes gelbgrün erscheint und im gefärbten Präparate sich entsprechend der Farbenaffinität des Hämoglobins ausschließlich mit sauren Farbstoffen anfärbt. Die größte Dicke des Erythrozyten beträgt etwa 2,5. μ Die Körperchen sind kernlos und verdanken wahrscheinlich dem Verschwinden des im blutbereitenden Organe ursprünglich vorhanden gewesenen Kernes ihre eigenartige bikonkave Form.

Die äußere Hülle der Erythrozyten ist halbdurchlässig — durchlässig nämlich für Salze — und erscheint ausgesprochen klebrig, wovon ebenfalls bereits die Rede war. Im Zelleibe scheinen sich außer dem Hämoglobin nach verschiedenen Beobachtungen auch Plasmaanteile vorzufinden, welche bei Störung der Isotonie (0,92% Na Cl) des Plasmas zu einer lebhaften Diffusion, und wenn diese nicht rasch genug möglich ist, gelegentlich auch zur Sprengung des Erythrozyten zu führen vermögen. Unter normalen Verhältnissen wird die Lebensdauer eines Erythrozyten auf die immerhin beträchtliche Zeit von drei bis vier Wochen geschätzt.

Ein solcher normaler Erythrozyt erscheint demnach bei Färbung mit Eosin und einem basischen Farbstoff stets rein eosinrot, ohne Glanz; die zentrale Delle ist klein, farblos oder nur spurweise gefärbt, der umgebende Hämoglobinring, welchem die Zelle ihre Färbung allein verdankt, ist breit und gleichmäßig stark gefärbt. Nach Romanowsky gefärbt, zeigen die Erythrozyten einen sehr verschiedengradig veränderten Eosinton; manchmal sind sie noch lebhaft rot gefärbt, ein andermal aber

erscheinen sie matt graurötlich, und dazwischen alle Übergangsnuancen. Bei Triazidfärbung ist der Farbenton der Erythrozyten in hohem Maße abhängig von dem Grade und der Art der Fixation. Wurde eine normale Hitzefixation verwendet, so ist das Hämoglobin satt orangefarben, höchstens mit einem Rosaschimmer; so soll der Farbenton auch wirklich sein. Bei zu geringer Fixation wird der Farbenton zunächst ein mehr braungelblicher und bei noch niedrigerer Temperatur immer mehr und reiner fuchsinrot. Zu starke Erhitzung hat eine schattenhafte und hellgelbe Färbung des Erythrozytenleibes zur Folge. Bei alleiniger Methylenblaufärbung wechselt der Farbenton ebenfalls nach dem Grade der Fixation. Wurde das Hämoglobin nicht genügend fixiert, so erscheinen die Erythrozyten farblos; bei genügender Fixation, am besten in Methylalkohol, sind sie mehr oder weniger deutlich gelbgrün gefärbt. Bei zu starker Fixation in der Hitze werden sie dagegen dunkel blaugrün und überfärben sich sehr leicht.

In pathologischen Zuständen hat man bei den Erythrozyten auf folgende Dinge zu achten:

1. Auf die Gesamtzahl der Erythrozyten in der Raumeinheit;

2. auf den Gehalt an Blutfarbstoff und die Art der Verteilung desselben innerhalb der Zellen;

3. auf Größen- und Formunterschiede der Zellen unter besonderer Berücksichtigung der Häufigkeit und des Grades der Veränderungen;

4. auf abnorme Farbstoffaufnahme im Sinne einer Polychromatophilie oder basophilen Körnung;

5. auf das Fehlen oder Vorhandensein von kernhaltigen Erythrozyten und in letzterem Falle auch besonders auf die Zahl und Art der kernhaltigen Zellen.

Die absolute Zahl der Erythrozyten

in der Raumeinheit läßt sich im gefärbten Trockenpräparate nicht schwerer und nicht leichter beurteilen als im Nativpräparate. Ich verweise in allererster Linie also auf das dort Gesagte. Hier hebe ich wiederholend und ergänzend nur das folgende hervor: Die Gesamterythrozytenzahl läßt sich aus einem mikroskopischen Präparate nur dann schätzungsweise und annähernd beurteilen, wenn sie sehr hochgradig von der Norm entweder im Sinne

einer Verminderung oder im Sinne einer Vermehrung abweicht. Immer muß man dabei die Dicke des untersuchten Präparates, beziehungsweise der untersuchten Stellen des Präparates berücksichtigen.

Oligozythämie.

Will man aus der auffallenden Spärlichkeit der Zellen im Gesichtsfelde auf eine starke Verminderung der Erythrozyten schließen, so muß man zuerst die volle Gewähr dafür haben, daß das Präparat nicht zu dünn gestrichen ist. Zur Beurteilung dessen aber bietet das Präparat selbst genügende Anhaltspunkte. Es müssen in einem nicht zu dünnen Präparate erstens in allen Erythrozyten, auch in den größten, die Dellen tadellos erhalten sein, und andererseits dürfen die Leukozyten nicht zu stark plattgedrückt erscheinen; nur unter solchen Verhältnissen ist das Präparat zu brauchen. Auch muß selbstverständlich das ganze Präparat zur Begutachtung herangezogen werden, und auch dann hat das Urteil, abgesehen von den äußerst sicher zu erkennenden extremen Veränderungen, immer mit Vorsicht stilisiert zu sein.

Polyzythämie.

Genau die gleiche Vorsicht ist für die Beurteilung einer Polyzythämie geboten. Bei sehr ausgesprochenem Befunde, der allein erkennbar ist, erscheinen auch im Trockenpräparate die Plasmaräume auf ein Minimum reduziert, die Erythrozyten drängen und quetschen einander auch im nicht gerade dicken Präparate, und sie umschließen insbesondere sehr häufig die Leukozyten aufs engste und verunstalten sie in nicht besonders gut gelungenen Präparaten sehr leicht durch ihren Druck.

Der Hämoglobingehalt der Erythrozyten

läßt sich auch im Trockenpräparate ganz ähnlich beurteilen wie im frischen Blute; nur hat man hier den Grad der Aufnahme des sauren Farbstoffes als Gradmesser der relativen Hämoglobinmenge im einzelnen Erythrozyten zu betrachten. Es ist natürlich auch im gefärbten Präparate nur der Färbeindex, den man abschätzen kann, nicht der absolute Hämoglobingehalt.

Einfluß der Färbungsdauer.

Eine gewisse Erschwerung der Beurteilung könnte man im Färbepräparate darin erblicken, daß die Färbungsstärke nicht nur von der Masse der färbbaren Substanz, also des Hämoglobins, sondern auch von der Dauer und Stärke der Farbstoffeinwirkung abhängt. Das ist auch immer in Rechnung zu ziehen; es gelingt

aber bei einiger Übung leicht, davon zu abstrahieren und unter allen Verhältnissen ein richtiges Urteil abzugeben. Die längere Dauer der Farbstoffeinwirkung kann nur die Stärke der Färbung an denjenigen Stellen, welche überhaupt Farbstoff aufgenommen haben, erhöhen; nicht aber vermag sie den überhaupt färbbaren Zellanteil zu vergrößern oder zu verkleinern. Und auf das letztere allein hat man zu achten; also auf das Verhältnis zwischen Größe der zentralen ungefärbten Delle und der Breite des gefärbten peripheren Hämoglobinsaumes unter steter Berücksichtigung der Gesamtgröße der Zelle.

Einfluß der Dicke des Präparates.

Ausgeschaltet müssen vor allem wieder zu dünne Stellen der Präparate werden, unbedingt jene, wo die zentrale Delle nicht mehr in allen Zellen tadellos erhalten ist. Ja es empfiehlt sich sogar, lieber etwas dickere Partien des Trockenpräparates zur Beurteilung heranzuziehen, weil man da immer ein klareres Bild vor Augen hat — selbstverständlich müssen aber die zur Beurteilung selbst herangezogenen Zellen einzeln nebeneinander auf der Breitseite liegen. Ich habe es wiederholt gesehen, daß Anfänger von großen Unterschieden in der Färbung sprachen, weil ein Teil der Zellen einzeln lag, während andere zu zweit oder zu dritt aneinander und teilweise übereinander gereiht lagen und dadurch viel dunkler gefärbt erschienen; aber das ist natürlich nur Nachlässigkeit der Beobachtung.

Normaler Farbstoffgehalt.

Das ungefähre Normalmaß der Färbung muß man sich zunächst durch Übung zu eigen machen. Es zeigen hiebei, wie gesagt, die Zellen nur eine kleine ungefärbte Delle und einen breiten wohlgefärbten Hämoglobinsaum.

Herabsetzung desselben.

Bei Herabsetzung des Farbstoffgehaltes im einzelnen Erythrozyten erscheint die gefärbte Randzone ganz auffällig verschmälert. Nur der peripherste Saum der Zelle hat den sauren Farbstoff aufgenommen, verschieden stark je nach der Länge und Stärke der Farbstoffeinwirkung, aber immer nur in schmaler Zone. Der weitaus größte Teil des Zellinnenkörpers erscheint farblos. Mit einem Ringpessar hat man diese Zellen verglichen und sie „Pessarformen" genannt; ob die Vorstellung durch diesen wenig geschmackvollen Namen gerade besser wird, erscheint mir allerdings einigermaßen zweifelhaft. Ich meine, daß das einmalige Ansehen eines solchen äußerst charakteristischen Bildes wesentlich mehr leistet als der phantasievollste Name. Es ist tatsächlich eine solche wesentliche Herabsetzung

der Färbekraft, wie sie ganz im allgemeinen dem als „Chloranämie" bezeichneten Typus der Blutveränderung zukommt, nie zu verkennen, wenn man sie nur einmal ordentlich angesehen hat; die Kennzeichnung ist im gefärbten Präparate noch klarer als im frischen.

Aber nicht die auffällige Größe der Delle allein beweist die Hämoglobinarmut der Zelle. Wenn wir es mit einer bedeutenden Vergrößerung des Erythrozyten zu tun haben, kann trotz großer Delle noch immer eine normale oder sogar eine abnorm große Hämoglobinmenge in ihm enthalten sein. Dann werden wir aber auch bei großer Delle einen breiten, wohlgefärbten Hämoglobinsaum finden, die Unterscheidung von einem „chlorotischen" Erythrozyten wird uns also trotz größerer ungefärbter Innenzone keine Schwierigkeiten verursachen.

Vermehrung.

Vermehrung des relativen Hämoglobingehaltes ist im allgemeinen wesentlich schwerer zu beurteilen als die Verminderung. Gelingen wird die Feststellung ohneweiters nur dann, wenn man abnorm große Zellen mit kleiner Delle und sonst durchaus intensiver Hämoglobinfärbung in großer Zahl vor sich hat. Aber das eine wird man jederzeit leicht feststellen können, daß eine wesentliche Verminderung des Hämoglobingehaltes nicht vorliegt, auch dann, wenn die Zellen vorwiegend vergrößert sind und zum Teile vielleicht deshalb eine beträchtlich große Delle aufweisen. Auch dieses Bild prägt sich leicht der Erinnerung ein und wird selbst vom Ungeübten selten verkannt werden.

Ungleichmäßige Hämoglobin-Verteilung innerhalb der Zelle.

Beizufügen habe ich hier, daß in pathologischen Fällen die Verteilung des Hämoglobins im Innern der Zelle durchaus nicht immer eine so gleichmäßige ist wie im normalen Erythrozyten. Man sieht Abweichungen besonders häufig an den etwas gequollenen Zellen chloranämischen Blutes, und diese weisen immer wieder denselben Typus auf: Am Rande die schmale gefärbte Hämoglobinzone, mitten drin aber in dem ungefärbten Innenraume der Zelle liegt ein mehr oder weniger regelmäßig rundlich begrenzter hämoglobinfarbiger Fleck, der entweder ganz von dem peripheren Saume abgeschlossen erscheint oder aber durch eine Brücke mit ihm in Verbindung steht. Sehr viel seltener sieht man derartige Bilder bei hohem Färbeindex. Hier kommt eher eine Rissigkeit der Zelle oder aber bei ovaler Zellform z. B. eine scheinbar doppelte Dellung beiderseits von einer

in diesen Fällen gut gefärbten Mittelzone vor. Eine weitere Bedeutung haben solche „Hämoglobininnenkörper" der Erythrozyten nicht, sie sind ganz im allgemeinen ein häufiges Attribut chlorotischer Anämien.

Färbungsunterschiede im selben Blute.

Besonderer Wert ist weiterhin auf die Beurteilung der Frage zu legen, ob die Färbung der Erythrozyten in dem untersuchten Blute eine im allgemeinen gleichmäßig starke ist oder nicht, und ob in letzterem Falle die vorhandenen „Färbungsunterschiede" zahlreich und hochgradig sind. Es gibt ja Blutsorten, wo die Abblassung der Zellen ganz allgemeine Regel ist und sogar bis zu einem gewissen Grade auch annähernd gleichmäßig erfolgt. Man denke an die Chlorose. In anderen Fällen hingegen ist gerade die Ungleichmäßigkeit der Zellfärbung eines der hervorstechendsten Kennzeichen des Blutbildes: Sehr stark gefärbte, sogar sicher abnorm hämoglobinreiche Zellen liegen neben den bläßesten, hämoglobinärmsten Gebilden. Man denke an das Bild einer perniziösen Anämie.

Das alles läßt sich sehr wohl im gefärbten Präparate, und zwar am besten in ihm, studieren und feststellen, und es soll bei der Aufnahme und Abfassung eines Blutbefundes auf diese Verhältnisse, welchen gelegentlich eine große differentialdiagnostische Bedeutung zukommen kann, gebührend Rücksicht genommen werden. Der diesbezügliche Teil des Befundes soll also die bestehenden Verhältnisse klar und deutlich für jeden Leser zum Ausdrucke bringen.

Noch einmal wiederhole ich zum Schlusse: Hüte sich jeder vor der Beurteilung des Hämoglobingehaltes in zu dünnen Präparaten. Wo die Delle nicht mehr an allen Zellen tadellos deutlich sichtbar ist, hat man jedes Urteil einfach abzulehnen.

Auch bezüglich der

Größen- und Formverschiedenheiten der Erythrozyten

kann ich mich jetzt unter Hinweis auf das bei Abhandlung des Nativpräparates Gesagte kurz fassen. Beurteilen kann man sie in jedem Präparate, sei es Nativ-, Trocken- oder Erythrozytenzählpräparat. Gerade das letztere gibt trotz der gewöhnlich verwendeten schwachen Vergrößerung doch ein recht klares und einwandfreies Bild, schon deshalb, weil man hier mit Quetschung

der Zellen nicht zu rechnen hat und die Netzteilung der Zählkammer zugleich gewisse Anhaltspunkte für die Beurteilung der absoluten Maße gewährt. Dies ist nämlich das Schwierigste an der Sache, wenn man keine Vergleichspräparate zur Verfügung hat.

Normale Größe.

Das Maß für die normale Größe fehlt im allgemeinen dem wenig Geübten am leichtesten, und er ist geneigt, wenn die Mehrzahl der Zellen eine gewisse, annähernd gleiche Größe aufweist, diese als normal anzunehmen. Ich habe da oft das Erstaunen meiner Kurshörer beobachten können, wenn sie z. B. die Zellen des Blutes einer wenig vorgeschrittenen perniziösen Anämie für normal groß erklärt hatten, und ich ihnen dann zum Vergleiche ein wirklich normales Blut oder gar eine Chlorose bei gleicher Vergrößerung daneben einstellte. Wenn die Zellen sehr ungleich groß sind, kommt einem die Überschreitung des normalen Maßstabes seitens des einen Teiles vielmals leichter zum Bewußtsein als bei allgemeiner Vergrößerung innerhalb mäßiger Grenzen. „Anisozytose" wollen Strauß und Rohnstein*) den in Rede stehenden Zustand des Blutes benennen. Ich glaube, daß „Größenunterschiede" dasselbe sagt. Es klingt zwar etwas weniger gelehrt, ist aber dafür allgemeiner verständlich.

Größenunterschiede.

Alles, was unter 6 μ und alles, was über 9 μ größten Durchmesser hat, dürfen wir wohl als abnormen Erythrozyten bezeichnen. Wir gehen ja allerdings gewöhnlich nicht gleich mit dem Mikrometer auf die Blutpräparate los und werden dementsprechend die wenig abweichenden Werte manchmal übersehen können. Das ist kein großes Unglück; man wird in allen jenen Fällen, wo solche Abweichungen vorkommen, jedenfalls die „abnorme Reichlichkeit von Größenunterschieden innerhalb mäßiger Grenzen" feststellen können, und da kommt es nicht mehr darauf an, ob eine Zelle etwas mehr oder weniger als 6 μ Durchmesser hat. Mikrozyten pflegen wir ohnedies erst die wesentlich kleineren Formen, und Makro- oder Megalozyten erst die sicher abnorm großen Zellen zu nennen.

Ich bemerke hier nur nebenbei, daß ich unter „Mikrozyt" nicht nur wie Ehrlich eine abnorm kleine Zelle von kugeliger Form verstehe, sondern ganz dem Namen entsprechend über-

*) Die Blutzusammensetzung bei den verschiedenen Anämien. Berlin, Hirschwald, 1901.

haupt einen abnorm kleinen Erythrozyten, ohne weiteren Nebengedanken. Die kugeligen Gebilde kommen doch wohl zu selten zur Beobachtung und haben als eigentlich sekundär durch beginnende Schrumpfung veränderte Formen der scheibenförmigen Mikrozyten zu wenig praktische Bedeutung, als daß man ihnen zuliebe mit dem Namen auch gleich eine Nebenbedeutung verbinden sollte.

Poikilozytose.

Auch pflege ich seit jeher den Begriff der Poikilozytose von jenem der Größenunterschiede zu trennen. Ich verstehe unter ersterem rein und ausschließlich Abweichungen von der normalen Form der Zelle ohne Rücksicht auf ihre Größe. Wenn ich daher von einem abnorm kleinen Poikilozyten sprechen will, so werde ich entweder die eben gebrauchte Wendung benützen oder ich nenne ihn einen „Mikropoikilozyten". Ich glaube, daß nur die strenge Übereinstimmung von Name und unterlegtem Begriffe vor Unzukömmlichkeiten zu schützen vermag.

Zahl und Grad der Unterschiede.

Wenn wir uns in der schon bei Besprechung des Nativpräparates angegebenen Weise vor der Verwechslung mit Schrumpfungsformen und Kunstprodukten durch Quetschung und dergleichen schützen, werden wir also besonders im gefärbten Trockenpräparate in der Lage sein, über Größen- und Formunterschiede zu urteilen. Wir werden aber nicht nur ihr Bestehen im Befunde notieren, sondern auch die ungefähre Zahl der Unterschiede und ihren Grad möglichst genau beschreibend zum Ausdrucke bringen, weil nicht das bloße Vorhandensein, sondern gerade die Spärlichkeit oder Häufigkeit, die Gering- oder Hochgradigkeit die wesentlichste diagnostische und differenzierende Bedeutung besitzen: Just das reichliche Vorhandensein der Extreme in Größe und Kleinheit und Formveränderung neben allen möglichen Mittelstufen verleiht z. B. dem typischen Bilde der perniziösen Anämie zu einem wesentlichen Teile mit sein eigenartiges Gepräge.

Zusammenhang zwischen Größe und Farbstoffgehalt der Zellen.

Die Mikro- und Makro- und ebenso die Poikilozyten können naturgemäß auch in bezug auf ihren Farbstoffgehalt von der Norm abweichen und als abnorm blaß oder abnorm hämoglobinreich erscheinen, ja sie sind sogar selten normal gefärbt. Ganz unberechtigt aber wäre es, wie das Grawitz*) tut, zu sagen, die Megalozyten seien zumeist auffällig hämoglobinarm. Das stimmt ja allerdings bei den verschiedenartigen Chloranämien,

*) Klinische Pathologie des Blutes. Berlin, Enslin, 1902.

aber gerade bei diesen Formen spielen Makrozyten keine besonders hervorragende Rolle. Bei den perniziösen Typen, wo die Megalozytose just eine sehr bemerkenswerte Rolle spielt, erscheinen im Gegenteile die Megalozyten ganz gewöhnlich abnorm hämoglobinreich, und blaß sind gewiß nur sehr wenige. Hingegen könnte man von den Mikrozyten und Mikropoikilozyten eher jene Behauptung aufstellen: Sie sind sowohl bei chlorotischem als perniziösem Anämietypus in der überwiegenden Mehrzahl wirklich blaß, wenn auch selbst unter ihnen gelegentlich wohlgefärbte Gebilde ebenfalls beobachtet werden.

„Schistozyten."

Mit Ehrlich pflegt man Mikrozyten und Mikropoikilozyten als Produkte einer Fragmentierung normal großer Erythrozyten aufzufassen („Schistozyten"). Ob allerdings die damit verbundene Vergrößerung der respiratorischen Oberfläche, wie Ehrlich meint, der Zweck der Fragmentierung ist, mag besser dahingestellt bleiben; es dürfte schwer fallen, das objektiv zu beweisen, zumal gerade in jenen Fällen, wo die ausgesprochenste Mikrozytose zur Beobachtung kommt, fast immer die überwiegende Mehrzahl der Zellen — „unpraktisch" respirierende Megalozyten sind.

Entstehung und Bedeutung der vergrößerten Erythrozyten.

Bezüglich der vergrößerten Zellen muß ich betonen, daß sie meines Erachtens zweifellos eine doppelte Entstehung und je nach der Art dieser auch eine wesentlich verschiedene Bedeutung haben. Was wirklich so ein echter Megalozyt ist, erscheint, wie schon oben erwähnt, zumeist hämoglobinreich und macht nicht entfernt den Eindruck einer degenerierenden Zelle. Sie stammen eben, wie das Ehrlich mit besonderer Schärfe betont, wohl wirklich von abnorm großen Mutterzellen ab. Diese Formen finden sich nur bei sehr schweren Anämien, in besonderer Reichlichkeit bei der kryptogenetischen perniziösen Anämie, viel seltener und spärlicher in anderen Fällen; und auch diese sind dann ganz allgemein durch hohen Färbeindex gekennzeichnet. Nur solche Zellformen erreichen die manchmal extreme Größe der „Gigantozyten", die 15—20 μ im Durchmesser betragen kann.

Ein ganz anderes Bild bieten jene Zellvergrößerungen, welche mit Hämoglobinarmut einhergehen. Sie erreichen gewöhnlich nur mäßige Grade, die Zellen sind häufig polychromatisch und haben wenig, oft ungleichmäßig verteiltes Hämoglobin (siehe oben), und vielfach weisen sie auch andere Zeichen der

Minderwertigkeit, beziehungsweise der Degeneration auf. Sie stellen meines Erachtens ohne Frage Produkte einer Wasseraufnahme und Quellung dar, wie das auch von anderer Seite mehrfach betont wird. Solche Zellen findet man häufig bei verschiedenen hydrämisch-chlorotischen Anämietypen, und insbesondere zahlreich und in schönster Form habe ich sie bei schweren Blutungsanämien beobachten können.

Es würde sich in jedem Falle empfehlen, diese Unterschiede dort, wo man sie sicherstellen kann, auch in der Benennung zum Ausdrucke zu bringen und die Bezeichnung Makro- oder Megalozyt im allgemeinen nur für jene Formen, welche vergrößerten Stammzellen ihre Entstehung verdanken dürften, zu verwenden, während man die gequollenen, blassen, degenerierenden Zellen einfach als vergrößerte oder gequollene Zellen bezeichnen sollte.

Eine weitere Veränderung der roten Blutkörperchen, von welcher zu sprechen ich bisher noch nicht Gelegenheit hatte, besteht in der Eigenschaft, nicht nur saure Farbstoffe aufzunehmen, sondern neben diesen auch basische, und sich daher in einem Mischtone zu färben. Wir bezeichnen diese Anomalie als

Polychromatophilie oder Polychromasie.

Die Veränderung wurde zuerst von Ehrlich beschrieben und als „anämische Degeneration" bezeichnet; seither ist ihre Auffassung ein wenig verschoben worden, aber auch heute noch bildet sie ein Streitobjekt unter den Hämatologen.

Erkennung im frischen Blute.

Im frischen Präparate sollte man diese Veränderung eigentlich ihrer Art entsprechend nicht zu erkennen vermögen. Trotzdem wird es dem Erfahrenen manchmal ohneweiters gelingen, mit gutem Rechte zu sagen: Diese Zelle würde im gefärbten Präparate polychromatisch erscheinen, da die Erfahrungen an Trockenpräparaten Kennzeichen an die Hand geben, welche bei sehr ausgesprochener Veränderung auch ohne die charakteristische Farbenreaktion die Erkennung ermöglichen. Vor allem erweisen sich nämlich diese Zellen mehr matt und wesentlich blässer gefärbt. Sie haben also weniger Hämoglobin, erscheinen auch vielfach in ihrem Protoplasma weniger regelmäßig gebaut und an ihrem Rande weniger scharf begrenzt. Wenn nun solch eine

Zelle noch etwa einen sehr großen, außerordentlich zart gefärbten und meist sehr deutlich strukturierten Kern hat, so darf man ohne Bedenken die Diagnose der Polychromatophilie auch ohne Färbung riskieren. Praktisch hat das allerdings gar keinen Zweck, und ich will es einem Mindererfahrenen ja nicht geraten haben, sich darauf einzulassen; ich wollte nur die Möglichkeit feststellen.

Erkennung im Trockenpräparate: a) Färbung.

Im gefärbten Präparate nun sind die polychromatischen Erythrozyten, wie schon gesagt, im wesentlichen durch die Aufnahme eines basischen Farbstoffes neben dem sauren Hämoglobinfärbemittel gekennzeichnet. Die Aufnahme der fremden Farbe erfolgt bei den verschiedenen Exemplaren in einem ganz außerordentlich verschiedenen Grade. Manchmal ist nur ein leiser Hauch des basischen Farbstoffes zu sehen, ein andermal wieder kann man beinahe in Verlegenheit kommen, jemandem zu beweisen, daß neben dem basischen überhaupt noch ein saurer Farbstoff vorhanden ist; und dazwischen finden sich natürlich alle nur denkbaren Mittelstufen.

Neben der Färbung kommen die sonstigen Eigenschaften der Zellen für die Erkennung im Trockenpräparate kaum in Betracht. Ich muß sie trotzdem auch noch besonders hervorheben, weil sie vielleicht der Anlaß werden könnten, daß ein Mindergeübter die Zellen verkennt.

b) Größe.

Zunächst ist die Größe der Zellen ganz außerordentlich verschieden; vom kleinsten Mikrozyten bis zum Gigantozyten kann jede Zelle Polychromatophilie aufweisen, und wir können tatsächlich kaum mit einigem Rechte behaupten, daß die eine Größe öfter dieser Veränderung anheimfalle als die andere.

c) Struktur.

Häufig weisen diese Zellen weiters unregelmäßige Struktur ihres Zytoplasmas und unregelmäßige Begrenzung auf: einmal sieht solch eine Zelle wie angenagt oder angefressen aus, ein andermal wie zerknüllt, oder aber sie hat wenigstens ihre runde Begrenzungslinie eingebüßt und erscheint oval oder überhaupt unregelmäßig. Die Delle kann vorhanden sein oder vollkommen fehlen, und im letzteren Falle sehen wir oft eine ganz ungleichmäßige Färbung. Irgendeine unregelmäßig begrenzte Innenzone z. B. erscheint etwas heller in Färbungsstärke und Farbenton; oder es sind außer der Randzone überhaupt nur einzelne Leisten im Mischtone gefärbt; oder aber, und das scheint recht häufig zu sein, man sieht irgendwo an einem Teile ihres Umfanges einen zarten, dünnen, mattfärbigen Saum, der so wie

eine Art Volant über die kompakte Zellmasse hinausragt. Wenn eine solche Zelle in ihrer Hauptmasse besonders dunkel gefärbt ist, habe ich es wiederholt gesehen, daß Anfänger sie mit Lymphozyten oder kernhaltigen roten Blutkörperchen verwechselten. Sie schämten sich ja gleich wieder ihres Irrtums, wenn ich ihnen eine wirkliche kernhaltige Zelle in ihrer ganz anderen Färbung zeigte, aber ich glaube, es wird Ihnen nicht schaden, wenn Sie auf die Möglichkeit einer solchen Verwechslung hingewiesen werden, da sie am besten die Hochgradigkeit, welche die Veränderung erreichen kann, ad oculos demonstriert. d) Hochgradigkeit der Entwicklung.

Die Stärke der polychromatischen Färbung hängt aber nicht nur von dem Grade der ihr zugrunde liegenden Veränderung ab, sondern sehr bedeutend auch von der Art der färberischen Behandlung. Es sind durchaus nicht alle Verfahren in gleicher Weise geeignet, diese Anomalie darzustellen und hervorzuheben. Am besten nehmen die polychromatischen Erythrozyten von allen basischen Farbstoffen ohne Zweifel das Methylenblau und Methylenazur auf, am schlechtesten, d. h. gar nicht, das Methylgrün; auch zum Hämatoxylin haben sie nur eine geringe Affinität. Art der färberischen Darstellung:

Daraus ergibt sich im wesentlichen das Verhalten unserer Zellen bei den verschiedenen Färbemethoden.

Sehr schön kann man Polychromasie durch die einfache Methylenblaufärbung darstellen, allerdings äußert sie sich da nicht in einer Aufnahme mehrerer Farbstoffe, sondern nur in der abnorm starken Aufnahme des basischen Farbstoffes. Aber diese Bilder sind gerade sehr klar und kennzeichnend. Man muß sich bei Methylenblaufärbungen nur vor einem Mißgriffe schützen: die Präparate dürfen nicht zu stark in Hitze fixiert sein, sonst überfärbt der basische Farbstoff alles; die Erythrozyten werden durchwegs dunkelblaugrün, und die sonst so schöne Polychromasie wird wieder undeutlich. Das Richtige ist es, wie ich schon bei Besprechung der Färbetechnik hervorgehoben habe, wenn die normalen („orthochromatischen") Erythrozyten blaß gelbgrün gefärbt sind; dann erscheinen die polychromatischen blaugrün bis sattblau, oder sie zeigen gar bei Verwendung eines azurhaltigen Farbstoffes einen leisen violetten Schimmer. Besonders schön ist die Färbung bei der oben (S. 223) angegebenen Mastzellenfärbung mit Methylenblau-Jod: Die Zellen a) Methylenblau allein, b) Methylenblau-Jod,

erscheinen dann tiefgrün bis graugrün in verschiedenster Abtönung je nach dem Grade der Veränderung.

c) Eosin-Methylenblau, Eine noch schönere, weil zweifärbige Darstellung, die demnach auch besser dem Namen entspricht, erfährt die Polychromatophilie bei Eosin-Methylenblaufärbungen der verschiedensten Art: Es sind dies wohl die überzeugendsten Bilder, welche man sehen kann. Vom zarten Mattrosa mit violettem Hauch bis zu einem fast reinen Tiefblau, das kaum mehr einen rötlichen Schimmer aufkommen läßt, finden wir alle Töne des Violett vertreten, oft auch verschiedene Abtönung innerhalb derselben Zelle. Auch hier hat man sich mit besonderer Sorgfalt vor Überfärbungen, welche dann das ganze Präparat oder große Teile desselben betreffen und namentlich bei unzweckmäßiger Fixation zustande kommen, zu hüten. Verwerten darf namentlich ein wenig Geübter nur ein Präparat, in welchem die normalen Erythrozyten in durchaus reinem Eosinton gefärbt erscheinen.

d) Romanowsky, Ähnlich, aber noch mannigfaltiger, sind die Bilder bei Verwendung einer Romanowskyfärbung. Hier wechselt eben schon der normale Eosinton der unveränderten Erythrozyten ganz ungeheuer und demnach auch die polychromatische Färbung; nur das eine ist konstant, daß sich die Zellen in einem unreineren, gegen das Violett oder Blau zu variierenden Tone färben. Bei matter Eosinfärbung und besonders niedrigem Hämoglobingehalte können sie selbst fast rein himmelblau erscheinen.

e) Hämatoxylin-Eosin, Viel weniger gut und geradezu unverläßlich sind Hämatoxylin-Eosinfärbungen bei gewöhnlicher Ausführung, weil das Hämatoxylin auch trotz der Alaunbeize zu der basophilen Substanz der polychromatischen Zellen wenig Verwandtschaft zeigt, und die geringen Grade von Hämatoxylinfärbung durch Eosin ungemein leicht gedeckt werden. Nur die hohen Grade sind durch ein schmutziges Graurot oder Blaurot wohl immer kenntlich gemacht; geringere Grade bedingen einfach matt rosarote Färbung oder sind gar nicht sicher zu erkennen. Jedenfalls muß man, um die Polychromatophilie mit Hämatoxylin gut zur Darstellung zu bringen, eigens ungewöhnlich lange mit diesem Farbstoffe färben, etwa eine Viertel- oder eine halbe Stunde lang; dann allerdings kann man auch mit dieser Färbung schöne Bilder

f) Hämatoyxlin-Pikrinsäure, erzielen. Wesentlich besser als das Eosin eignet sich für solche Zwecke als saurer Farbstoff die weniger deckende Pikrinsäure.

g) Triazid.

Eine besondere Stellung nimmt wieder das Triazid ein. Sein basischer Farbstoff, das Methylgrün, hält sich auch den polychromatischesten Erythrozytenleibern möglichst ferne. Dagegen sind zwei saure Farbstoffe und zwei neutrale Verbindungen vorhanden, und diese differenzieren auch die polychromatischen Zellen ganz ausreichend und schön. Im wesentlichen sehen diese mehr rötlich aus, als den Erythrozyten bei der angewendeten Fixation zukommt, sie erscheinen, wie Engel sagt, mehr fuchsinophil gegenüber den orangeophilen Normozyten. Aber wir haben schon früher gesehen, daß es für die Erythrozytenfärbung bei Triazid keine feste Regel gibt, daß vielmehr alles von dem Grade der Fixation abhängt; die Fuchsinophilie ist also eine durchaus relative; bei anderer Fixation haben vielleicht sogar die normalen Erythrozyten wesentlich mehr Fuchsin aufgenommen! Auch ist der polychromatische Ton doch nicht ein reiner Fuchsinton, sondern er erscheint entweder mehr gelbrot oder aber schmutzig braunrot, so daß man auch die Nuance zur Unterscheidung heranziehen kann und gewiß nicht berechtigt ist, „polychromatisch" vollständig gleich „fuchsinophil" zu setzen.

Erkennung im Leukozytenzählpräparate.

Ich bemerke im Anschlusse hieran nur noch einmal, daß höhere Grade der Polychromatophilie sich nicht nur im Trockenpräparate darstellen lassen, sondern auch im Leukozytenzählpräparate sehr leicht erkennbar sind, wenn man nach meinem Vorschlage eine mit Gentianaviolett gefärbte Essigsäure als Zählflüssigkeit verwendet. Die polychromatischen Erythrozyten nehmen bei dieser Behandlung in ihrem Protoplasma den basischen Farbstoff auf und treten so auffällig deutlich hervor, während die übrigen Erythrozyten durch Auslaugung des Hämoglobins zu kaum sichtbaren Schatten geworden sind.

Verläßlichkeit der verschiedenen Färbemethoden.

Ehrlich und Lazarus empfehlen ausdrücklich, sich zum Studium der Polychromatophilie des Triazids oder der Eosin-Hämatoxylinmischung zu bedienen und warnen vor dem Methylenblau wegen Gefahr der Überfärbung. Ich kann nicht umhin, hiegegen meine früher ausgesprochene Meinung aufrecht zu halten. Ich muß sogar mit besonderem Nachdrucke betonen, daß zur Sicherstellung geringer Grade von Polychromasie die einfache Methylenblaufärbung das einzige durchaus verläßliche Verfahren ist, trotz der Einfärbigkeit. Man färbe nur einmal ein anämisches Blut gut mit Methylenblau und daneben gut mit Hämatoxylin-Eosin und man wird erstaunt sein darüber, wieviel einem

bei der letzteren Färbung entgeht. Ich färbe deshalb dort, wo ich Gewicht darauf lege, zu sehen, wieviel Polychromasie besteht, und auch zum Studium dieser Veränderung grundsätzlich nur einfach mit Methylenblau oder Methylenblau-Jod. Alle anderen Verfahren reichen an Empfindlichkeit nicht entfernt an diese Methode heran, was sich wohl durch die deckende Eosinfärbung usw. leicht erklären läßt.

Von den Doppelfärbungen gibt die klarsten und schönsten Bilder jedenfalls Eosin-Methylenblau, welche Färbung auch zweifelsohne wesentlich empfindlicher ist als Hämatoxylin. Ich ziehe ein zweizeitig mit Eosin und Methylenblau (ohne Mischung) gefärbtes Präparat in dieser Hinsicht jedem anderen vor, ja ich färbe sogar absichtlich stark mit Methylenblau nach. Bei Methylalkoholfixation ist eine allgemeine Überfärbung nicht zu befürchten, und sollte sie einmal ausnahmsweise eingetreten sein, so erkennt man das spielend leicht und wird das Präparat einfach verwerfen.

Wesen der Polychromasie a) nach Ehrlich,

Nach Ehrlich bedeutet die Polychromasie „ein allmähliches Absterben der roten Blutkörperchen, und zwar der älteren Formen, welches zu einer Koagulationsnekrose des Diskoplasmas führt. Dieses belädt sich dabei mit Eiweißstoffen des Blutes und gewinnt dadurch die Fähigkeit, sich mit Kernfarbstoffen zu verbinden. Gleichzeitig verliert das Diskoplasma seine Fähigkeit, das Hämoglobin zurückzuhalten, und gibt es entsprechend den Veränderungen in immer erhöhtem Maße an die Blutflüssigkeit ab". In ganz gleichem Sinne sprachen sich Maragliano und Castellino aus. Diese Anschauung von dem degenerativen Charakter der Polychromatophilie hat Ehrlich auch gegenüber Gabritschewski und einer Reihe anderer Autoren aufrecht erhalten, welche die polychromatischen Elemente für jugendliche Gebilde erklärten mit Rücksicht auf das Vorkommen der Polychromasie in undegenerierten Normoblasten, sogar mit karyokinetischer Teilung.

b) nach Gabritschewski,

c) neuere Auffassungen,

Bis in die letzten Jahre schwebt nun der Streit, doch glaube ich, daß die Frage wohl bereits zur Entscheidung reif sei. Alle neueren Untersuchungen haben ergeben, daß auch jugendliche, kernhaltige Erythrozyten ohne jedes Zeichen von Degeneration die ausgesprochensten Grade von Polychromasie aufzuweisen vermögen, während andererseits niemand mehr leugnet, daß für

die absterbenden Elemente die oben ausgeführte Ansicht Ehrlichs völlig zu Recht besteht. Insbesondere hat sich auch Pappenheim in diesem Sinne ausgesprochen.

Meine persönliche Anschauung, welche sich zur vollen Überzeugung verdichtet hat, geht dahin, daß zum Entstehen einer typischen Polychromasie zwei Umstände zusammenwirken müssen: erstens eine abnorme Basophilie des Zytoplasmas, und zweitens eine abnorme Hämoglobinarmut, da normaler Hämoglobingehalt die Basophilie des Zytoplasmas zu decken vermag. Beide Bedingungen können aber unter ganz verschiedenen Verhältnissen zusammentreffen. Zunächst haben wir genügende Anhaltspunkte, um anzunehmen, daß das Zytoplasma jugendlicher, unausgereifter Erythroblasten eine sehr verschieden starke basophile Komponente besitzt. Das hat nichts mit Degeneration zu tun, sondern ist der Ausdruck der noch nicht zu Ende geführten Differenzierung und findet sich gerade in lebhaft proliferierenden Elementen, wie es scheint, insbesondere in jenen, welche sich aus hämoglobinfreien Vorstufen entwickeln. Auch ich habe die schönsten Erythroblastenmitosen in hochgradig polychromatischem Protoplasmaleibe gesehen. Alle diese Zellen sind zugleich hämoglobinarm, weil sie noch nicht genug von diesem Farbstoffe gebildet, beziehungsweise in sich aufgenommen haben. Auf der anderen Seite trifft die von Ehrlich gegebene Schilderung und Erklärung der degenerativen Polychromasie genauestens zu. Die klassischen Objekte für derartige Studien geben schwere und ziemlich frische Blutungsanämien ab, bei denen man wirklich die innige Verbindung von rapider Zelldegeneration unter dem Einflusse des plötzlich verwässerten Plasmas mit ausgesprochener zumeist nicht sehr hochgradiger Polychromasie förmlich handgreiflich vor sich hat. Diese Zellen verlieren zugleich ihr Hämoglobin. d) eigene Meinung.

Ich stehe somit vollkommen auf dem gleichen Standpunkte wie Pappenheim und muß mich gleich ihm dahin aussprechen, daß „die Polychromasie weder der Ausdruck der Jugendlichkeit noch jener der Degeneration ist, sondern die Begleiterin beider sein kann", da sie Bedingungen zur Voraussetzung hat, welche unter beiderlei Verhältnissen gegeben sind.

Dieser Streit könnte also meines Erachtens geschlichtet werden. Es schwebt aber noch ein zweiter Streit über ein ähn-

liches und meines Erachtens sogar sehr innig mit der Polychromasie verknüpftes Thema, nämlich über

die basophile Körnung der Erythrozyten.

Dieser Streit ist noch nicht so nahe zur Austragung gediehen.

Zunächst ist zu bemerken, daß man bei zweierlei Untersuchungstechnik basophile Körnung in Erythrozyten nachzuweisen vermag, bei vitaler Färbung des frischen Blutes und bei Färbung des fixierten Trockenpräparates mit basischen Farbstoffen oder mit Farbstoffgemischen.

A Bei vitaler Färbung.

Bei vitaler Färbung mittels Neutralrot wurden basophile Granula wohl zunächst von Pappenheim*) im Blute von Mäuseembryonen beschrieben. Analoge Bildungen sind seither wiederholt von verschiedenen Seiten beobachtet worden, ohne besondere Beachtung zu finden. Namentlich italienische Autoren, welche frisches Blut mit $^1/_2 {}^0/_{00}$igem Methylenblau in isotonischer Kochsalzlösung behandelten, haben solche Granulationen wiederholt beschrieben, und Sacerdotti**) hält sie für ein Attribut der Jugendlichkeit der Erythrozyten. Auch Bibergeil***) hat neuerdings vital gefärbt, indem er die von Pappenheim empfohlenen basischen Mischungen Pyronin-Methylgrün oder Neutralrot-Methylgrün verwendete, bei deren Gebrauch die Körnchen im Gegensatze zur grünen Färbung der Kerne die rote Farbe annehmen. Während aber Pappenheim†) sagt, daß seine vital gefärbten Granula mit der „basophilen Punktation nichts zu tun haben", behandelt Bibergeil die von ihm gefärbten als gleichbedeutend mit ihr; er findet sie stets im normalen Blute und kann nur besonders reichliches Vorkommen als pathologisch anerkennen. Es sind also wohl ohne Zweifel verschiedene Dinge vital gefärbt worden, und es mag sein, daß die Granula der italienischen Forscher und Bibergeils mit der weiter zu besprechenden basophilen Körnung der Erythrozyten identisch sind.

Über diese bei vitaler Färbung sichtbaren Granula stehen mir übrigens keine eigenen Erfahrungen zu Gebote, ich wollte nur kurz von ihnen Notiz nehmen.

*) Inaugural-Dissertation. Berlin, 1895.
**) Ref. Folia hämatologica. 1904, Nr. 2.
***) Inaugural-Dissertation. Kiel, 1903. Ref. ebd.
†) Folia hämatologica. 1904, Nr. 2. (Anmerkung auf S. 91.)

B. Im Trockenpräparate.

Was man gewöhnlich als basophile Körnung oder Punktierung der Erythrozyten bezeichnet, wird in fixierten Trockenpräparaten dargestellt, am bequemsten und sichersten durch einfache Methylenblaufärbung in der oben angegebenen Weise, oder aber durch die verschiedensten anderen Methoden, bei denen ein geeigneter basischer Farbstoff, vor allem immer wieder Methylenblau, in genügend starker Einwirkung gebraucht wird. Methylgrün färbt als ausschließlicher Kernfarbstoff die Granula nicht; auch bei der gewöhnlichen zweizeitigen Eosin-Hämatoxylinfärbung habe ich sie nie gesehen, wohl aber ganz prächtig bei langdauernder Vorfärbung mit Hämatoxylin Delafield und kurzer Nachfärbung in Pikrinsäure, und ebenso ausnehmend schön bei meiner Mastzellenfärbung mit Methylenblau-Jod. Sehr schön tritt die Punktierung auch bei Anwendung des Romanowsky-Verfahrens zutage, wobei sie sich rein blau oder blauviolett färbt. Sehr schöne Bilder scheinen, nach ihren Tafeln zu urteilen, auch Strauß und Rohnstein durch Anwendung ihrer Rubeosin-Methylenblaufärbung erhalten zu haben. Sie mischen drei Teile einer Lösung von Eosin gelblich (Grübler) und einen Teil einer Rubin-(Grübler)lösung, beide $^1/_2$%ig in 80%igem Alkohol, unmittelbar vor der Färbung miteinander, färben die Präparate darin drei Minuten und behandeln schließlich für eine Minute mit einer älteren $^1/_3$—$^1/_2$%igen wässerigen Methylenblaulösung nach.

Für die empfindlichste und die einzige wirklich verläßliche Methode halte ich auch hier die Anwendung einfacher basischer Färbemittel, insbesondere des Methylenblaus. Bei Färbung mit Ehrlichs Triazid sind die Körnchen nicht gefärbt, doch kann man sie nach Bloch durch kurze Nachfärbung mit wässerigem Methylenblau zur Darstellung bringen.

Mikroskopisches Bild.

Bei irgend einer derartigen Behandlung zeigen sich nun tatsächlich in sehr vielen pathologischen Blutarten — bei normalem Blute scheinen nur Reitter*) und Silberstein**) etwas derartiges im Trockenpräparate gesehen zu haben — punktförmige basische Einlagerungen, welche aber meines Erachtens zweifellos nicht nur verschieden aussehen, sondern auch verschiedene Bedeutung haben.

*) Wiener klinische Wochenschrift. 1902. Nr 47.
**) Zentralblatt für Bakteriologie. Bd. 35.

Hie und da findet man nämlich einzelne gröbere basophile Körnchen irgendwo in der Mitte gelagert, oder aber eine umschriebene Gruppe kleiner, nicht immer gleich großer Körnchen, oder endlich einen einfachen Kreis solcher Dinge. Das sind jedoch nicht etwa die gewöhnlichen Bilder. Das, was vor allem anderen als echte und typische basophile Körnung anerkannt zu werden verdient, ist eine ziemlich gleichmäßige Durchsetzung des ganzen Zellprotoplasmas mit feinen, übrigens doch in verschiedenen Zellen — und auch in derselben — verschieden großen basisch gefärbten Pünktchen, welche in großer Zahl dicht nebeneinander stehen und der Blutscheibe geradezu ein siebartiges Aussehen verleihen. Dabei ist die Grundfarbe der Zelle entweder normal oder deutlich polychromatisch. Gar nicht selten ist das Vorkommen der basophilen Körnung neben dem wohl erhaltenen Kerne in Erythroblasten.

Vorkommen.

Die basophile Körnung findet sich, wie nunmehr hinlänglich feststeht, unter den allerverschiedensten Verhältnissen im pathologischen Blute, insbesondere bei allen Formen von Anämie und bei vielen Infektionen und Intoxikationen. In größerer Zahl werden die Granula meistenteils bei perniziöser Anämie gefunden; manchmal fehlen sie hier aber gerade kurz vor dem Tode und sind andererseits zahlreich vorhanden in Stadien der Remission oder bei voller Latenz (Bloch*). Dann schrieb man ihnen eine Zeitlang besondere diagnostische Bedeutung für die chronische Bleivergiftung zu, bei welcher sie ein Frühsymptom darstellen; aber sie finden sich in gleicher Weise, wenn auch verschieden zahlreich, bei allen nur denkbaren anämischen Zuständen, Chlorosen, Karzinomanämien, Malaria usw. Ihre differentialdiagnostische und prognostische Bedeutung darf also ja nicht hoch angeschlagen werden. Die größte Masse von punktierten Erythrozyten habe ich in einem Falle von myeloider Leukämie im Stadium der Leukozytenverminderung unter starker Arseneinwirkung beobachten können; dort wimmelte es förmlich von diesen Elementen, ohne daß dabei der Kranke irgendwie wesentlich anämisch gewesen wäre.

Deutung der basophilen Körnung:

Der ganze literarische Streit dreht sich nun um die Bedeutung unserer Granula.

a) als Produkt des Kernzerfalles.

A. Lazarus**) hat diesen Gebilden, die früher zwar schon

*) Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. 43, 1901.

**) Deutsche medizinische Wochenschrift. 1896, Nr. 23.

von Askanazy und von Schaumann gesehen, aber nicht weiter verfolgt worden waren, zum ersten Male größere Beachtung geschenkt und sie in großen Massen bei perniziöser Anämie nachzuweisen vermocht. Er war zunächst geneigt, sie für Produkte des Kernzerfalles anzusehen, spricht sich jedoch später *) schon viel reservierter aus, da er dichte „Punktierung" in Erythroblasten mit Mitose gesehen hat. Engel aber hält sie ganz positiv für Produkte des Kernzerfalles. Plehn beschreibt bei Malariakranken ähnliche Gebilde als „karyochromatophile Körner"; er stellte sie mit Romanowsky-Verfahren in blauvioletter Färbung dar und hält sie auch jetzt noch für eine jugendlichste Phase des ungeschlechtlichen Entwicklungszyklus der Malariaparasiten, wogegen von anderer Seite Einsprache erhoben wird. Grawitz **) erklärte sie für ein Produkt der Protoplasmadegeneration unter dem schädigenden Einflusse von Blutgiften, und legt ihnen darob große Bedeutung für die Diagnose der Einwirkung solcher Blutgifte bei; überall, wo die „körnige Degeneration" beobachtet wird, sind Blutgifte im Spiele, und unser Befund ist ein Frühsymptom derartiger Schädigung. Sabrazès ***) hinwiederum sah sich nach den Ergebnissen experimenteller Untersuchungen mit künstlicher Bleivergiftung veranlaßt, die gekörnten Erythrozyten als Elemente der lebhafteren Regeneration zu betrachten, und sieht in ihrem Verschwinden ein Versagen des Knochenmarkes.

b) als Produkt der Protoplasmadegeneration.

c) als Ausdruck lebhafter Regeneration.

Ich habe nur die Hauptvertreter der verschiedenen Auffassungen von der Bedeutung der basophilen Körnung angeführt, welche noch heute im Streite miteinander liegen. Neuerdings hat Nägeli†) die ganze Frage durch einen seiner Schüler ††) kritisch durchprüfen lassen, und es ergab sich bei Ausführung experimenteller Untersuchungen mit Bleiintoxikation eine volle Übereinstimmung mit den Angaben von Sabrazès: Nur vorsichtige chronische Bleivergiftung konnte die Granulation zum Vorschein bringen, größere Dosen dagegen bringen die schon

*) Nothnagels Handduch. Bd. VIII, Abt. 2, S. 115.

**) Deutsche medizinische Wochenschrift. 1899, Nr. 36. — Berliner klinische Wochenschrift. 1900, Nr. 9. — Klinische Pathologie des Blutes. 1902.

***) Zitiert nach Nägeli; siehe unten.

†) Münchener medizinische Wochenschrift. 1904, Nr. 5.

††) Lutoslewski, Inaugural-Dissertation. Zürich, 1904.

vorhandenen Körnchen zum Verschwinden, und es gelang niemals, ein Tier, bei welchem durch Steigerung der Giftdosis die Körnchen einmal aus dem Blute verschwunden oder doch spärlich geworden waren, noch am Leben zu erhalten, außer wenn Jodkalium als Antidot gegeben wurde. In solchen Fällen trat mit der Genesung wieder eine Vermehrung der gekörnten Erythrozyten auf.

Aus diesen und weiteren Untersuchungen leitet Nägeli die Folgerung ab, daß die Auffassung von Grawitz, es handle sich um Produkte einer toxischen Degeneration der Erythrozyten, nicht mehr aufrecht erhalten werden könne; im Gegenteile sieht er in den granulierten Erythrozyten gleich Sabrazès den Ausdruck einer erhöhten regeneratorischen Reaktion des Knochenmarkes auf die Blutschädigung durch das Gift. Ob die Körnung auf Kernzerfall oder Protoplasmaveränderung zurückzuführen sei, will er nicht entscheiden, er läßt beide Möglichkeiten offen.

Eigene Auffassung.

Wenn Sie mich nun um meine eigene Meinung fragen, so muß ich zunächst betonen, daß ohne Zweifel unter dem Sammelnamen der basophilen Körnung ganz verschiedene, miteinander gar nicht in Zusammenhang stehende Dinge vereinigt werden, wie ich schon eingangs andeutete. Die einzeln liegenden oder zu kleinen Gruppen vereinten gröberen und verschieden gestalteten basophilen Einlagerungen in Erythrozyten halte ich ohne Zweifel für Reste eines in Zerfall und Resorption begriffenen Kernes. Insoweit stimme ich mit Grawitz ebensowohl als mit Strauß und Rohnstein überein. Über Plehns karyochromatophile Körner will ich mir kein abschließendes Urteil erlauben, doch scheint mir die von ihrem Autor gegebene Erklärung nicht eben wahrscheinlich zu sein.

Die echte und typische Punktierung aber, welche das ganze Zellprotoplasma in großer Zahl stäubchenartig durchsetzt, halte ich ganz zweifellos für ein Produkt des Zytoplasmas, das mit Kerndegeneration nicht entfernt in Beziehung steht. Ich habe diese Körnung auf Grund rein klinischer Beobachtungen von jeher in nahe Beziehung und Analogie zur Polychromatophilie gesetzt und ich stehe auch heute noch auf diesem Standpunkte. Ich will damit diese beiden Zustände durchaus nicht für identisch erklären, sondern nur auf ihre nahe Verwandtschaft hingewiesen haben. Im besonderen meine ich — und in dieser Hinsicht kommen die neuesten Untersuchungen

Nägelis meiner Auffassung entgegen — daß die basophile Körnung eine häufige Eigenschaft des unausgereift zur Ausschwemmung gelangten jugendlichen Zellprotoplasmas sei. Allerdings liegt es mir ferne, die Möglichkeit zu leugnen, daß auch degenerative Veränderungen des Zytoplasmas zu solchen Bildungen Veranlassung geben können. Gesehen habe ich aber eine basophile Körnung bei zweifellos untergehenden Zellen noch nicht. Bislang schien der Umstand, daß die meisten Beobachter im Knochenmarke niemals basophile Körnung nachweisen konnten, gegen die Entstehung derselben in diesem Organe und für ihre Entwicklung im zirkulierenden Blute zu sprechen. Es scheint aber, wie Nägeli meines Erachtens richtig hervorhebt, daß die Färbetechnik nicht geeignet gewesen sei; denn es gelang in neuerer Zeit mehrmals, so insbesondere auch Pappenheim*), die basophile Körnung bei besonderer Behandlung auch in den Erythroblasten des Knochenmarkes nachzuweisen.

So dürften also Polychromasie und basophile Körnung keine wesentlich verschiedene Bedeutung besitzen und wohl am besten von gleichen Gesichtspunkten aus zu beurteilen sein.

*) Münchener medizinische Wochenschrift. 1901.

10. Vorlesung.

(Entwicklung der roten Blutkörperchen. Erythroblasten. Blutplättchen.)

Die letzte pathologische Erscheinungsform, in welcher sich uns die roten Blutkörperchen im Blute zeigen, stellen dar

die kernhaltigen Erythrozyten (Erythroblasten).

Auch diese Zellen sind ein Gegenstand lebhafter wissenschaftlicher Auseinandersetzungen und vielfacher moderner Forschungen. Wenn ich Ihnen auch nicht die ganze Streitfrage, wie sie sich seit etwa zehn Jahren entwickelt und verdichtet hat, aufrollen will, so halte ich es für das Verständnis der später zu besprechenden Pathologie der Erkrankungen des Blutes und der blutbereitenden Organe doch für unbedingt geboten, Ihnen von den wesentlichsten Grundlagen der Zellbildung und Zellentwicklung der roten Blutkörperchen eine übersichtliche Skizze zu entwerfen; und es ist vielleicht gut, wenn ich diese allgemeinen Bemerkungen allen übrigen Erörterungen vorausschicke.

Entwicklung der Erythrozyten. Allgemeines.

Die roten Blutkörperchen des peripheren Säugetierblutes sind hochdifferenzierte Zellprodukte, welche unter normalen Verhältnissen selbst bereits ein wesentliches Kennzeichen jeder vollwertigen Zelle eingebüßt haben: den Kern. Bei allen niedrigeren Wirbeltierklassen ist der Kern den Zellen erhalten geblieben; wir müssen also von vorneherein annehmen, daß die Kernlosigkeit der Säugetierblutkörperchen den Ausdruck einer besonders hohen Differenzierung im Sinne einer bestimmten Funktion darstellt, welcher der für diese Funktion nicht mehr erforderliche, ja vielleicht gar hinderliche Kern zum Opfer gefallen ist. Die Erythrozyten haben somit aufgehört, vollwertige Zellen zu sein; sie vermögen nur mehr, eine ihrer spezifischen Ausgestaltung eigene Funktion auszuüben und gehen zugrunde. Für die Erhaltung ihrer Art zu sorgen ist ihnen benommen, es müssen diese Auf-

gabe also andere Gebilde übernehmen. Diese haben wir zunächst in den kernhaltigen Erythrozyten, den Erythroblasten, zu suchen, die ihrerseits aber ihre Entwicklung und Ausreifung nicht im peripheren Blute, sondern in eigenen „blutbereitenden Organen“ durchmachen.

Es ist weiter ein ausnahmslos gültiges Gesetz der Entwicklungsgeschichte, daß sich höher differenzierte Zellen aus minder differenzierten und schließlich aus ganz undifferenzierten oder, wie man zu sagen pflegt, „indifferenten“ Zellen entwickeln, deren Stammbaum sich hinwiederum bis auf die Eizelle zurück müßte verfolgen lassen. Unsere kernhaltigen roten Blutzellen stellen aber ohne Zweifel eine hochdifferenzierte Zellform dar, denn sie enthalten in ihrem Protoplasma eine nur ihnen allein von allen Körperzellen zukommende Substanz: Das Hämoglobin. Es ist also nach den allgemeinen Gesetzen der Entwicklungsgeschichte anzunehmen, daß die hämoglobinführenden Zellen von minder differenzierten hämoglobinfreien Zellen abzuleiten sind.

Zusammenhang mit hämoglobinlosen Zellen.

Dadurch kommen die „roten“ Blutzellen in innigere Berührung mit den anderen, nicht hämoglobinführenden, also „weißen“ Zellelementen des Blutes, und es entwickeln sich hieraus zwei Fragen: Sind vielleicht 1. die Erythroblasten Abkömmlinge der weißen Blutzellen oder haben sie 2. mit ihnen wenigstens einen gemeinsamen Ausgangspunkt, und stellen dann beide nach verschiedenen Richtungen hin entwickelte Differenzierungsprodukte einer gemeinsamen Stammzelle dar?

Während das Entstehen der kernlosen Erythrozyten aus den kernhaltigen Erythroblasten eine jedem Streite entrückte Tatsache darstellt, sind diese beiden eben gestellten Fragen Gegenstand der lebhaftesten Kontroverse geworden. Wir können aber heute doch bereits den einen Teil dieser Frage gleich vorweg entscheiden.

Wir haben zwingende Gründe, anzunehmen, daß auch die weißen Blutkörperchen des kreisenden Blutes Gebilde darstellen, welche für spezifische Zellfunktionen hoch differenziert sind. Es widerspricht aber allen aus den Gesetzen der Entwicklungsgeschichte abzuleitenden Erfahrungen, wenn wir annehmen wollten, daß eine hochdifferenzierte Zelle den Ausgangspunkt für eine andere, gleichfalls hoch, aber in ganz anderer Richtung differenzierte Zellart bilde. Es ist sonach a priori von der Hand zu weisen, daß sich die roten Blutzellen aus den volldifferen-

zierten weißen Blutzellen entwickeln könnten. Damit stimmt auch die embryologisch bei allen Vertebraten festgestellte Tatsache überein, daß rote Blutzellen bereits im frühesten Embryonalleben in großer Zahl und in lebhaftester Proliferation gefunden werden, zu einer Zeit, wo von weißen Blutkörperchen noch kaum überhaupt etwas zu entdecken ist.

Auf der anderen Seite ergeben sich wieder Anhaltspunkte, welche wenigstens für einen gemeinsamen Ausgangspunkt beider Arten von Blutzellen sprechen. Das Wesentliche davon ist, daß alle Organe, in denen jemals vom frühesten Embryonalleben an Blutzellen gebildet werden können und tatsächlich gebildet werden, ihren Ausgang vom Mesenchym nehmen. Darin liegt zum mindesten die Sicherheit, daß die ursprünglichen indifferenten Mesenchymzellen als Ahnen beiden Arten von Blutzellen gemeinsam sein müssen. Es fragt sich nur, ob die Differenzierungsreihe bis zur Trennung unserer beiden Arten von Blutzellen eine gemeinsame ist, oder ob vielleicht zwei Stämme sich in verschiedener Richtung differenzieren und die beiden Arten von Blutzellen erst die Endglieder zweier bereits von der indifferenten Mesenchymzelle an getrennten Entwicklungsreihen darstellen. Diese Frage allerdings müssen wir zunächst in Schwebe lassen.

Wir wollen uns sonach dem Entwicklungsgange der roten Blutzellen, soweit die Forschungen über ihn Aufklärung gebracht haben, in kurzer Zusammenfassung zuwenden.

Phylogenese und Ontogenese.

Da ergibt sich zunächst als allgemein gültiges Gesetz, daß die kernhaltigen roten Blutkörperchen aller Vertebraten im frühen embryonalen Leben größer sind als im späteren, und daß die kleinsten Blutzellen immer die des postembryonalen Lebens sind. Die verschieden hochstehenden Tierarten wieder verhalten sich mit großer Gesetzmäßigkeit so, daß die Zellen gleicher Entwicklungsperioden immer bei der tiefer stehenden Art größer sind als bei der höher entwickelten. Und analog verhalten sich die Kerne (Pfitzner); je weiter man im Tierreiche abwärts geht, desto chromatinärmer werden die Kerne, und bei der gleichen Tierart sind sie um so chromatinärmer, je jünger das Tier ist. Die Chromatinarmut ist also ein Kennzeichen der Jugendlichkeit, ja des embryonalen Charakters der Zelle.

Bedeutung des Kerncharakters nach Pappenheim.

Diese Grundlagen hat speziell Pappenheim zu seinen systematischen Aufstellungen ausgebaut. Er sieht in dem Grade des Chromatinreichtumes den wesentlichsten Charakter des Ery-

throblasten, einen wesentlicheren als in der allerdings auch gesetzmäßiger Umwandlung unterworfenen Größe der Zellen. Er teilt sonach die Zellen in amblychromatische (blaßkernige) und trachychromatische (dunkelkernige) ein, und findet in der Chromatinarmut, welche überwiegend in den frühesten Embryonalstadien zugleich mit der besonderen Größe der Zellen beobachtet wird, das Zeichen einer tiefer stehenden Entwicklung. In den späteren Stadien der embryonalen Entwicklung überwiegt hingegen der dunkelkernige (trachychromatische) Zellcharakter, insbesondere vom Zeitpunkte der Bildung des Knochenmarkes an. In diesem Punkte stimmt Pappenheim sogar mit Engel, sonst vielfach seinem Antipoden, überein. Wir dürfen also die beiden Sätze: daß in den frühesten embryonalen Perioden weitaus überwiegend große Erythroblasten mit chromatinarmem Kerne, in den späteren Entwicklungsstadien aber kleinere Zellen mit chromatinreicherem Kerne die Erythrozytenbildung beherrschen, als anerkannte Tatsachen hinstellen.

Namengebung Ehrlichs.

Die ersteren Zellen werden von Ehrlich als „Megaloblasten", die letzteren als „Normoblasten" bezeichnet, welche Namen allerdings, weil sie zuviel Gewicht auf die Größe legen und den seiner Anschauung nach viel wichtigeren Kern unberücksichtigt lassen, den Beifall Pappenheims nicht besitzen. Dieser möchte vielmehr die Namen amblyochromatische und trachyochromatische Erythroblasten angewendet wissen. Wir wollen um die Worte weiter nicht rechten und die uns geläufigere Benennung Ehrlichs, aber ausdrücklich mit Unterlegung der eben zum Ausdrucke gebrachten Bedeutungen, beibehalten.

Rote Blutzellen der ersten embryonalen Entwicklungszeit.

Ursprünglich sind im embryonalen Blute auch der Vertebraten zunächst alle roten Blutzellen kernhaltig, und erst allmählich findet anfangs spärlich, später immer mehr überwiegend, eine Entkernung statt, derart, daß in den letzten Stadien des fötalen Lebens im kreisenden Blute fast ausschließlich kernlose Erythrozyten getroffen werden. Hiebei ändert sich, entsprechend der kernhaltigen Stammform, auch die Größe der kernlosen Körperchen. Aus den großen Erythroblasten entstehen große Erythrozyten, welche also ebenfalls im frühen embryonalen Leben eine bedeutende Rolle spielen; aus den kleinen Erythroblasten entstehen kleine Erythrozyten, welche das Blutbild späterhin immer mehr und mehr beherrschen.

Eine durchgängig scharfe Trennung zwischen megaloblastischem und megalozytischem Blutbildungstypus einerseits und dem normoblastischen und normozytischen Typus andererseits scheint im embryonalen Leben nicht zu bestehen. Es ist nur Tatsache, daß der erstere Typus die niedrigere Stufe der Entwicklung in den frühesten Stadien des fötalen Lebens darstellt, und daß er immer mehr durch den zweiten Typus verdrängt wird. Dabei darf man aber wohl annehmen, daß aus dem blaßkernigen Megaloblasten sich zunächst wieder eine gleiche Zelle entwickeln wird, wie das in gleichem Sinne auch für den dunkelkernigen Normoblasten zu gelten hat.

Anfänglich geht die Blutbildung von den mesenchymalen Endothelzellen der Gefäße aus. Allmählich nehmen dann bestimmte Organanlagen wesentlichen Anteil daran, vor allem Leber und Lymphdrüsen, später auch die Milz; und erst im vierten Monate des embryonalen Lebens entwickelt sich beim Menschen nach erfolgter Anlage des Knochensystems in ihm das Mark zum spezifisch blutbereitenden Organe. Je mehr seine Differenzierung und Ausbreitung wächst, desto mehr treten die früher tätigen provisorischen Blutbildungsstätten in den Hintergrund und nehmen einen anderen spezifischen Entwicklungsgang, so daß schon in der zweiten Hälfte des embryonalen Lebens das Knochenmark definitiv das blutbereitende Organ kat' exochen darstellt. Diese Rolle behält es bekanntermaßen während des ganzen Lebens bei; und da mit seiner Entwicklung auch die Art der Zellbildung immer mehr den definitiven Charakter des extrauterinen Lebens annimmt, so kann man mit Engel wirklich die Entwicklung des Knochenmarkes als Markstein zwischen einem provisorischen und einem definitiven Stadium der Blutbildung betrachten, wenn auch der Übergang durchaus kein schroffer und unvermittelter, sondern ein ganz allmählicher ist. Immerhin findet man schon bald nach der Funktionsübernahme des Knochenmarkes ein Überhandnehmen des normoblastischen Typus auf Kosten der immer mehr zurücktretenden Megaloblasten; auch die kernlosen Zellen verlieren die frühere Größe und bekommen überwiegend normozytischen Charakter. In der letzten Zeit des fötalen Lebens gleicht das Blutbild in allen wesentlichen Punkten bereits dem während des extrauterinen Lebens bestehenden, indem nur mehr vereinzelte Normoblasten und einige polychromatische Normo-

Rote Blutzellen nach Anlage des Knochenmarkes

a) am Ende des fötalen Lebens,

zyten kreisen. Im Marke aber sind noch immer kleine megaloblastische Herde zu finden.

b) im Säuglingsalter.

Genau so verhält sich das Blut auch im allerersten Kindesalter. Es herrscht noch immer lebhafteste Tätigkeit, denn es wird mit dem raschen Wachstum des kindlichen Organismus eine sehr bedeutende Zunahme der Gesamtblutmenge gefordert. Das ganze Knochensystem ist von lebhaft tätigem rotem Marke erfüllt. Das äußert sich auch in der ganz enorm lebhaften Reaktion, welche auf alle Schädlichkeiten von Seite des blutbildenden Markgewebes erfolgt. Und jetzt kommt auch noch sehr leicht die Nähe des embryonalen Lebens zum Ausdrucke: verhältnismäßig geringe, d. h. wenigstens reparable Schädlichkeiten sind imstande, den ganzen wohlgeordneten Regenerationstypus des Blutes zu stören und eine teilweise Rückkehr zum fötalen megaloblastischen und megalozystischen Blutbildungstypus zu bewirken.

c) beim Erwachsenen

α) unter normalen Verhältnissen.

Hat einmal das Wachstum des Körpers eine langsamere Entwicklung genommen, so beginnt auch die Tätigkeit des Markgewebes eine minder lebhafte zu werden, und vom Erwachsenen wissen wir, daß nur mehr das Mark der spongiösen Knochen seine blutbereitende Funktion in einem individuell äußerst wechselnden Grade aufrecht erhalten hat. Aber auch jetzt besteht eine ganz verwunderlich große Regenerationsfähigkeit des Markgewebes.

β) bei gesteigerter Regeneration.

Wirkt eine Schädlichkeit längere Zeit in gleichem Sinne auf das Blutbildungsorgan ein, so kommt es rasch wieder zu einer Umwandlung des ruhenden Fettmarkes in funktionierendes rotes Mark, und schließlich kann eine ganz verallgemeinerte Markbildung wie beim Neugeborenen ausgebildet sein. Allerdings bleibt die Reaktion jetzt auf die meisten Schädlichkeiten hin lange Zeit innerhalb der für den Erwachsenen gültigen Gesetze, d. h. der Regenerationstypus bleibt ein normoblastischer und normozytischer.

Rückkehr zum embryonalen Typus.

Schließlich aber kann auch hier bei genug intensiver und genug langdauernder Einwirkung ein Rückschlag in den Blutbildungstypus der ersten Hälfte des embryonalen Lebens erfolgen, indem ein kleinerer oder größerer Teil des Markes eine megaloblastische Umwandlung erfährt, und dementsprechend auch die kernlosen Zellen zum Teile megalozytischen Typus aufweisen. Es scheint, daß verschiedenartige Schädlichkeiten, welche einen solchen Erfolg herbeizuführen vermögen, in ihrer Wirkung nicht gleichwertig sind. Einmal genügt schon eine anscheinend geringergradige Schwere der Affektion zur Er-

zeugung des veränderten Blutbildes, in ätiologisch andersartigen Fällen aber ist eine geringgradige megaloblastische Umwandlung erst das Produkt schwerster, letaler Erkrankung.

Anschauungen über normale und pathologische Erythroblastenbildung beim Erwachsenen.

Das Wie? einer derartigen Rückkehr zum embryonalen Blutbildungstypus ist noch eine recht strittige Frage. Aber es beginnt sich auch hier eine Klärung vorzubereiten.

Man ist leider noch nicht einig darüber, auf welche Weise die Bildung und Vermehrung der Erythroblasten unter normalen Verhältnissen im Knochenmarke des Erwachsenen vor sich geht.

Pappenheim*) nimmt auch für diesen physiologischen Zustand an, daß im Marke die kernhaltigen roten Blutkörperchen wohl zum größten Teile aus kleinen einkernigen hämoglobinfreien Zellen entstehen; der direkten Teilung der Erythroblasten selbst scheint er keine große Rolle zuzuschreiben. Bloch**) hingegen hat sich in einer ausführlichen Arbeit neuerdings auf einen ganz anderen und, wie mir scheinen will, vollkommen logischen Standpunkt gestellt. Er meint, daß kein zwingender Grund vorliege, eine solche Annahme zu machen; es könne seines Erachtens die zweifellos vorhandene direkte Teilung der Normoblasten des normalen Markes hinreichen, um den physiologischen Erythrozytenbedarf des Organismus zu decken.

Nehmen wir einmal diese letztausgesprochene Ansicht zur Grundlage unserer Erwägungen. Dann müssen wir sofort feststellen, daß im embryonalen Leben die Blutbildung gewiß einen anderen Weg nimmt, und zwar um so mehr, je weiter zurück wir gehen. Ich habe schon erwähnt, daß die ersten Blutkörperchen direkt aus Gefäßendothelien der mesenchymalen „Blutinseln" entstehen dürften. Die so gebildeten Erythroblasten teilen sich ja allerdings in den Kapillaren der Leber und auch frei während der Zirkulation außerordentlich lebhaft auf mitotischem Wege und vermehren sich so. Diese Vermehrung reicht aber anscheinend nicht aus; denn zu gleicher Zeit findet doch immer noch eine lebhafte Neubildung von hämoglobinaufnehmenden Zellen aus hämoglobinlosen in den Lymphdrüsen, dann in der Milz, dann im Knochenmarke statt — jetzt allerdings nicht mehr direkt aus den Gefäßendothelien, sondern aus großen einkernigen farblosen Zellen, welche Abkömmlinge dieser letzteren darstellen (Pappenheim). Insbesondere scheint es, daß auf diesem Wege der

*) Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. 43, 1901.
**) Zieglers Beiträge. Bd. 34, Heft 3, 1903.

megaloblastische Zelltypus gebildet wird. Aber auch später im Knochenmarke erfolgt während des embryonalen Lebens — und wie es scheint, auch noch im frühen Kindesalter — eine Bildung von roten Blutzellen aus farblosen Mutterzellen, wobei allerdings neben den großen einkernigen farblosen Zellen jetzt auch immer mehr und mehr kleinere Formen in diese Funktion eintreten. Die Vermehrung der kernhaltigen Erythrozyten selbst erfolgt jetzt schon viel weniger mehr durch Mitose als durch direkte Kernteilung oder Sproßung.

Es ist ersichtlich, daß der angenommene physiologische Regenerationsmodus beim normalen erwachsenen Menschen hohen Anforderungen nicht zu entsprechen vermag, um so weniger, als jetzt auch die Vermehrung der Normoblasten nur in wenig lebhaftem Tempo und überwiegend auf direktem Wege erfolgt. Wenn durch schwere oder lange einwirkende blutzerstörende Schädlichkeiten irgend welcher Art nun aber auf einmal oder in immer steigendem Grade besonders hohe Anforderungen an die Blutneubildung gestellt werden, so ist es von vorneherein bei der schon betonten enormen Fähigkeit des funktionierenden Markgewebes, sich an längst verlassenen Stätten wieder anzusiedeln, als wahrscheinlich anzunehmen, daß jetzt auch der lebhaftere Zellbildungstypus des fötalen Lebens wieder aktiviert werden könnte — einmal früher, einmal später, einmal in geringer, ein andermal in größerer Ausdehnung. Und dann ist es auch leicht begreiflich, daß schließlich ebenso wie noch im embryonalen Knochenmarke neben den kleinen auch wieder große einkernige hämoglobinfreie Zellen an der Blutkörperchenbildung teilnehmen und die ihnen entsprechende Zellform, also Zellen von megaloblastischem Typus, werden bilden können.

Nimmt man diese Anschauungen an, so gelingt es meines Erachtens ohne Schwierigkeit, die in der Pathologie der Blutkrankheiten immer wiederkehrenden Befunde einer mehr oder weniger ausgesprochenen Atypie in der Blutregeneration und schließlich auch einen markanten „Rückschlag in den embryonalen Blutbildungstypus“ zu erklären.

Aber auch mit Pappenheims Anschauungen kommt man zum Ziele — allerdings geht es ohne ein wenig Künstelei nicht ab. Ich lasse ihn bei seiner geliebten komplizierten Ausdrucksweise lieber selber sprechen: „. . . . (es) verläuft die Blutbildung bei den schweren Anämien derart, daß fast alle großen Lympho-

zyten zur Megaloblastenbildung verwendet werden, welche sich keine Zeit zur normoblastischen Differenzierung nehmen, sondern sich selbst als solche größtenteils homoplastisch vermehren, beziehungsweise zu alten Megaloblasten heranwachsen. Die vorhandenen Normoblasten machen andererseits Anstrengungsversuche, sich selbst zu erhalten und zu vermehren. Statt der heteroplastischen differenzierenden Teilung der jüngeren Megaloblasten zu Normoblasten haben wir hier eine homoplastische Vermehrung jüngerer Megaloblasten, und das Resultat sind nicht reife neugebildete Normoblasten, sondern vermehrte ungeeignete alte Megaloblasten. Diese werden entkernt. Das Zwischenglied, die Normoblastenbildung, wird übersprungen. Es handelt sich also um eine Ausschaltung der Normoblastenbildung, zwar nicht um eine eigentliche Lähmung des Normoblastenbildungsvermögens, sondern vielmehr um einen teleologisch zu denkenden, übermäßigen Megaloblastenbildungstrieb."

Ich glaube, die ersterwähnte Ansicht ist mit weniger schönen und komplizierten Worten begreiflich zu machen und zu vertreten — und das spricht sehr zu ihren Gunsten. Ebenso wohl auch der Umstand, daß doch das „Normoblastenbildungsvermögen" nur in extremen Fällen wirklich so sehr in den Hintergrund tritt. Ich habe z. B. bei einer schwersten perniziösen Anämie mit dem denkbar typischesten megaloblastischen und megalozytischen Blutbilde in den letzten Lebenstagen unter der Einwirkung einer pneumonischen Infektion eine Ausschwemmung ganz enormer Mengen von Normoblasten gesehen, denen gegenüber die Megaloblasten jetzt förmlich verschwanden.

Sei dem, wie es wolle; jedenfalls stimmen beide Ansichten darin überein, daß ein Rückschlag in einen embryonalen Blutbildungstypus bei schweren Anämien auftrete und darin bestehe, daß große einkernige hämoglobinfreie Zellen, welche beim Erwachsenen normalerweise mit der Erythroblastenbildung nichts mehr zu tun haben, wiederum so wie beim Embryo, und zwar so, wie namentlich in den früheren Stadien des embryonalen Lebens, zur Erythroblastenbildung herangezogen werden und ihrer Natur gemäß die Bildung von Megaloblasten herbeiführen.

Entkernung der Erythroblasten: Ich habe nun in diesen allgemeinen Vorbemerkungen noch eine große Streitfrage abzuhandeln, nämlich die Frage nach dem Vorgange der Entkernung bei den Erythroblasten.

Hier stehen zunächst zwei Meinungen einander schroff gegenüber. Während Kölliker vor beinahe sechzig Jahren die Meinung aussprach, daß der Kern innerhalb der Zelle zugrunde gehe unter Kleinerwerden, Einschnürung oder Zerfall, und Neumann sich dieser Anschauung vollinhaltlich anschloß, vertrat zum ersten Male Rindfleisch die Anschauung, daß die Erythroblasten ihren Kern durch Ausstoßung verlieren. Der freie Kern, der immer noch einen kleinen Rest von Protoplasma an sich trage, sei imstande, sich einen neuen Protoplasmaleib aufzubauen, Hämoglobin aufzunehmen und sich wieder zu einem neuen Erythroblasten umzubilden. Neumann erklärte die Bilder der Ausstoßung des Kernes, welche Rindfleisch bei Behandlung des Blutes von Meerschweinchenembryonen mit „physiologischer" Kochsalzlösung gesehen hatte, für Kunstprodukte durch gröbliche Mißhandlung der Zellen; und die „freien Kerne", die man doch immer wieder im Blute finden konnte, stempelte er zu jugendlichen Formen der kernhaltigen Erythrozyten.

1. Kernresorption.

2. Kernausstoßung.

Ehrlich hat nun in diesen Streit insoferne vermittelnd eingegriffen, als er beide Entkernungsarten annahm, und zwar die Kernausstoßung für die Normoblasten, die intrazelluläre Kernauflösung für die Megaloblasten. Auf diese Weise wurde ein besonders markanter Gegensatz zwischen Normoblasten und Megaloblasten geschaffen. Die zugehörigen mikroskopischen Bilder kann man sich tatsächlich leicht beschaffen. Man sieht im tadellosen Trockenpräparate bei Anwesenheit einer größeren Menge von Erythroblasten ganz leicht alle Stadien der Kernausstoßung an Normoblasten, und man sieht die freien Kerne mit der anhaftenden Spur von Protoplasma. Man sieht auf der anderen Seite Megaloblasten in den verschiedenen Stadien der Karyolyse, welche soweit gehen kann, daß es Mühe macht, Kern und Protoplasma noch voneinander zu trennen.

3. Ehrlichs Anschauungen.

Dennoch ist diese strikte Scheidung zwischen Megaloblasten und Normoblasten in bezug auf den Entkernungsvorgang bis heute vereinzelt geblieben, d. h. es haben sich alle Forscher, auch diejenigen, welche beide Entkernungsvorgänge als bestehend ansehen, in dem Sinne ausgesprochen, daß ein Gegensatz in dieser Beziehung zwischen Normoblasten und Megaloblasten nicht anerkannt werden könne.

Die Mehrzahl der neueren Autoren ist auf Grund ihrer Studien zu der Anschauung gekommen, daß überhaupt die Kern-

4. Anschauungen neuerer Autoren.

auflösung und Kernresorption den regelmäßigen und normalen Entkernungsvorgang aller Erythroblasten darstelle. Sie leugnen ja allerdings das Vorkommen der Kernausstoßung nicht ganz, halten sie aber für eine ganz seltene Erscheinung. Ich verweise diesbezüglich auf die eingehenden und sorgfältigen Arbeiten von Arnold und von Pappenheim. Beide Autoren finden eine Stütze für ihre Anschauung darin, daß es ihnen gelang, im Inneren der normalen Erythrozyten zumeist einen Körper nachzuweisen, der mit aller nur möglichen Sicherheit als der in verschiedenem Grade umgewandelte Kernrest der Zelle angesprochen werden muß. Er wird als Nukleoid bezeichnet und ist nach Arnold von einem zarten „Paraplasma" umgeben oder durchsetzt. Dieser färberisch im unveränderten Erythrozyten gar nicht mehr darstellbare, also nicht mehr sichtbare Kernrest allerdings kann nach Arnold ins Blutplasma ausgestoßen werden.

Bloch*) ist nicht so exklusiv wie die beiden genannten Forscher. Er sieht in dem Kernaustritte kein Kunstprodukt, sondern einen neben der Kernauflösung physiologischermaßen vorkommenden zweiten Entkernungsmodus; nur kann auch er nicht zugeben, daß die Kernausstoßung den Normoblasten, die Kernauflösung aber den Megaloblasten als regulärer Entkernungsvorgang zukomme. Er meint vielmehr, daß beide Arten bei beiden Zellen in gleicher Weise vorkommen können.

Eigene Beobachtungen und Ansichten.

Ich will nach eigenen Beobachtungen im kreisenden Blute nur folgendes hiezu bemerken. Es unterliegt für mich keinem Zweifel, daß in Präparaten von schwerer Anämie, z. B. perniziöser Anämie oder Karzinose des Knochenmarkes, oder bei myeloider Leukämie, vor allem also dann, wenn viele Erythroblasten zu sehen sind, Bilder einer Kernausstoßung an Normoblasten durch alle Phasen verfolgt werden können, und ich muß es gleich Bloch entschieden verneinen, daß diese Kerne durch unzarte Behandlung der Präparate „ausgepreßt" seien. Ich habe aber nicht nur solchen Kernaustritt und freie Normoblastenkerne, sondern auch ganz typische freie, d. h. mit einer Spur fransigen Protoplasmas versehene Megaloblastenkerne im Blute gesehen. Daß die freien Kerne nicht durch Ausstoßung, sondern durch Degeneration und Zerfall des ihnen zugehörigen Protoplasmas entstanden seien, wie Israel und Pappenheim annehmen, kann ich nicht zugeben, wenigstens nicht für die Mehrzahl; ich

*) Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. 43. 1901.

habe zu oft den direkten Kernaustritt aus der zugehörigen roten Zelle im Blutpräparate mit eigenen Augen gesehen.

Trotz alledem halte ich die Ausstoßung des erhaltenen Kernes nicht für einen physiologischen Vorgang. Zunächst ist das Kreisen von kernhaltigen roten Blutkörperchen im peripheren Blute an sich kein physiologischer Zustand, und es unterliegt keinem Zweifel, daß im strömenden Blute auf die kernhaltigen Erythrozyten doch wieder ganz andere Verhältnisse einwirken als bei ihrem normalen seßhaften Dasein im Knochenmarke, seien diese Einwirkungen nun rein mechanischer Natur, seien sie vielleicht auch physikalisch-chemischer Art, wobei ich an eine Änderung der osmotischen Verhältnisse in dem doch jedesmal bei Kreisen von Erythroblasten mehr oder weniger pathologisch veränderten Blutplasma denke. Daß durch solche Dinge Kernausstoßung selbst bei Zellen, die unter physiologischen Verhältnissen überhaupt immer kernhaltig bleiben, hervorgerufen werden kann, ist ja vielfach bewiesen worden. Auf der anderen Seite weist Bloch mit vollem Rechte darauf hin, daß der Kernaustritt vorwiegend pyknotische Kerne betrifft, also Gebilde, welche sich bereits in einem Stadium regressiver Umwandlung befinden. Und Arnold sowohl als Pappenheim und auch Engel nehmen an, daß das in verschiedenem Grade der Rückbildung begriffene Nukleoid aus den roten Blutkörperchen ausgestoßen wird. Ausstoßung der „unverdaulichen Reste" wird also auch von den Vertretern des ausschließlichen intrazellulären Kernzerfalles nicht nur zugegeben, sondern gefordert.

Da scheint mir denn die Kluft zwischen beiden Anschauungen nicht mehr so breit und so tief zu sein. Ich meine, daß der folgende Erklärungsmodus bei dieser Sachlage schon durch die bloße logische Konsequenz nahegelegt wird: Die kernhaltigen Erythrozyten befinden sich im strömenden Blute unter außergewöhnlichen mechanischen und oft vielleicht auch unter ungünstigen osmotischen Verhältnissen; durch diese kann der Austritt des Kernes schon zu einer Zeit bewirkt werden, wo seine physiologische Rückbildung innerhalb der Zelle noch nicht den gewöhnlichen Grad (des „Nukleoids") erreicht oder aber kaum noch begonnen hat. Es handelte sich also dabei im wesentlichen um eine pathologische Beschleunigung und Umgestaltung eines an sich in allerdings anderer Form physiologischen Vorganges. Ob unter pathologischen Verhältnissen auch im Knochenmarke ein

solch vorzeitiger Kernaustritt zustande kommt, mag dahingestellt bleiben. Unter allen Umständen aber bin auch ich gleich allen neueren Autoren der Ansicht, daß ein grundsätzlicher und wesentlicher Unterschied in der Art der Entkernung zwischen Normoblasten und Megaloblasten nicht zu erweisen und auch nicht anzunehmen sei.

Morphologie der Erythroblasten.

Ich glaube nunmehr alle jene Umstände, welche für das Verständnis der klinisch-hämatologischen Befunde notwendig sind, erörtert zu haben, und gehe sonach daran, Ihnen die morphologischen Befunde bezüglich kernhaltiger Erythrozyten zu schildern, wie sie sich bei der Betrachtung der gefärbten Trockenpräparate ergeben.

Beim erwachsenen Menschen kommen also Erythroblasten im gesunden Zustande niemals im Blute vor; selbst beim Neugeborenen und im Säuglingsalter findet sich höchstens ausnahmsweise einmal ein Exemplar. Unter allen übrigen Umständen hat man ihr Vorkommen im peripheren Blute als pathologische Erscheinung anzusehen. Allerdings sind die Umstände, unter welchen sie auftritt, ganz außerordentlich vielfach und verschieden, und es ist nicht immer berechtigt, besonders schwere Veränderungen im Gesamtorganismus oder speziell im Marke vorauszusetzen, wenn einmal ein vereinzelter Normoblast im Blute gefunden wird.

Einteilung.

Wir tun noch immer am besten, für die Klassifizierung der Erythrozytenblasten die von Ehrlich gegebene Einteilung in Normoblasten und Megaloblasten beizubehalten. Ich betone nur nochmals, daß die Unterschiede zwischen beiden Formen außer der morphologischen Verschiedenheit ihrer Typen vorwiegend entwicklungsgeschichtlicher Natur sein dürften, und daß es nicht mehr zulässig erscheint, sie als zwei in ihrem Wesen verschiedene und in ihren biologischen Eigenschaften scharf getrennte Gebilde aufzufassen. Sie werden vielmehr aus dem folgenden leicht ersehen, daß es zwar spielend leicht gelingt, die vollkommen typischen Exemplare voneinander zu trennen, daß es jedoch unter Umständen sehr zahlreiche Bilder gibt, bezüglich welcher es geradezu der Willkür des Untersuchers überlassen bleibt, welcher Kategorie er die Zelle einreihen will. Morphologisch sind also in vielen Fällen Bilder fließenden Überganges vorhanden, was ich nicht so meine, daß die eine Zellart etwa sich in die andere

direkt umwandle, sondern in der Art, daß ich glaube, es werden eben in dem pathologischerweise schwer gereizten Knochenmarke nebeneinander die sämtlichen Glieder jener Differenzierungsreihe gebildet, deren Endpunkte die typischen Normo- und Megaloblasten darstellen.

Der Normoblast

also stellt eine kugelige Zelle dar von annähernd dem Durchmesser eines Normozyten, ausgestattet mit einem ganz außergewöhnlich chromatinreichen, also dunkelfärbigen und scharf abgegrenzten Kerne.

Was zunächst die Größe betrifft, so wird wohl die angegebene Grenze von den im Blute kreisenden Zellen nicht immer ganz peinlich eingehalten werden. Wir müssen immer bedenken, daß wir es mit schweren Schädigungen auch des Blutplasmas zu tun haben, welche leicht zu Quellungserscheinungen führen mögen, und weiter bedenken, daß auch im Blutbildungsorgane zumeist dann, wenn Erythroblasten im Blute kreisen, schwere Reizzustände bestehen, welche ein Abweichen von dem physiologischen Mittelmaße nur zu verständlich machen. Größenschwankungen innerhalb weiterer als der physiologischen Breite werden uns also noch nicht veranlassen dürfen, ein Gebilde, das sonst dem Zelltypus des Normoblasten entspricht, schon anders zu benennen. Größe.

Vor allem muß man sich auch vor wirklichen Irrtümern in der Beurteilung der Zellgröße schützen. Diese können dadurch entstehen, daß man dünne Präparate beobachtet, in welchen alle kugeligen Zellen, auch wenn sie nur den Durchmesser eines normalen Erythrozyten haben, beträchtlich plattgedrückt sind und demnach größer erscheinen. Es ist das jenes selbe Bild, dessen ich schon bei Besprechung des Trockenpräparates gedachte.

Für die Beurteilung und Benennung der Zelle ist also meiner Auffassung nach nicht nur und garnicht einmal in erster Linie die wirkliche oder scheinbare Größe maßgebend, sondern vor allem der Gesamtzellcharakter, der im wesentlichen durch das Verhalten des Kernes beherrscht wird.

In dieser Hinsicht ist nun zunächst auch das Größenverhältnis zwischen Kern und Protoplasma der Verhältnis zwischen Kern und Protoplasma.

Zelle nicht maßgebend. Dieses Verhältnis ist ein durchaus wechselndes, und wir können in bezug hierauf unter den Normoblasten geradezu zweierlei Typen unterscheiden. Bei dem einen Teile der Zellen nämlich ist der Kern nur von einem schmalen Protoplasmasaume umgeben, er macht also den Hauptanteil der ganzen Zelle aus. Andere Zellen tragen hingegen bei annähernd der gleichen Zellgröße einen verhältnismäßig viel kleineren, besonders dunklen Kern, der kaum eine erkennbare Struktur zeigt; ihr Protoplasmasaum ist breit, macht mehr als die Hälfte der Zelle aus. Die Lage des Kernes ist auch hier zunächst wie bei der ersten Abart annähernd konzentrisch. In beiden Fällen ist der Kern gegenüber dem Protoplasma durch eine chromatinreiche Randzone haarscharf abgegrenzt.

Protoplasma.

Das Protoplasma der Normoblasten zeigt wohl in der Mehrzahl der Fälle rein sauren Hämoglobinton; doch gelingt es bei empfindlicher Färbung nicht so schwer, in vielen dieser (z. B. bei Hämatoxylin-Eosin) scheinbar orthochromatischen Zellen eine geringe Polychromasie nachzuweisen. Oft ist aber auch bei minder sorgfältiger Färbung die Polychromasie des Protoplasmas offenkundig, manchmal sogar recht stark; extreme Grade gesehen zu haben, kann ich mich allerdings nicht erinnern. Auch die basophile Körnung ist in einem nicht gerade großen Teile der Normoblasten zu finden. Alle diese Veränderungen des Protoplasmas finden sich namentlich dann, wenn in einem Blute eine große Zahl von Erythroblasten vorhanden ist, wenn man also volles Recht hat, eine schwere Schädigung des Myeloidgewebes anzunehmen. Bei allgemeiner chloranämischer Beschaffenheit des Blutes ist oftmals auch das Protoplasma der Normoblasten sehr arm an Hämoglobin, es zeigt nur einen schmalen Hämoglobinsaum oder außer ihm noch eine förmliche Hämoglobinkrause um den Kern, oder der Farbstoff ist überhaupt im Zelleibe unregelmäßig verteilt. In solchen Fällen ist häufig auch die äußere Begrenzung der Erythroblasten eine etwas unregelmäßige, auch dort, wo Kunstprodukte auszuschließen sind; ich sehe dabei von der hie und da ovalen oder ellipsoidischen Form der Zelle ganz ab.

Chromatingehalt des Kernes.

Der Kern selbst ist durch seinen ganz besonderen Chromatinreichtum ausgezeichnet; er ist der weitaus dunkelfärbigste Kern aller Zellen des Blutes und Knochenmarkes, überhaupt aller Gewebe. Das Chromatingerüst ist äußerst dicht und

läßt nur bei sehr guter Behandlung der Präparate, wenn Fixation und Färbung tadellos gelungen sind, zwischen seinen einzelnen, ziemlich groben Strängen und Balken ein äußerst zierliches und feines Gitterwerk oder feinste Stippchen einer oxyphilen Substanz, des Kernsaftes (Karyolinin) erkennen. Oftmals erscheinen, wie schon angedeutet, namentlich die kleinen Kerne in etwas größerem Protoplasmasaume besonders dunkelfärbig und geradezu strukturlos. Die Strukturlosigkeit würde die Diagnose einer degenerativen Veränderung, der Pyknose, ermöglichen, wenn man in jedem Falle vollkommen sicher sein könnte, daß nicht die Behandlung der Präparate daran Schuld trägt. Man kann sich nämlich leicht überzeugen, daß durch ein Übermaß von Fixation oder durch fehlerhafte Anwendung der Farbstoffe Strukturlosigkeit in sehr vielen Zellen vorgetäuscht werden kann, während in anderen Präparaten desselben Blutes, welche durchaus korrekt behandelt wurden, ein sehr beträchtlicher Teil der Zellen desselben Typus noch eine sichere Kernstruktur erkennen läßt, und sich nur ein wesentlich kleinerer Teil auch hier strukturlos erweist. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß dieser zweite Zelltypus mit größerem Protoplasma und relativ kleinem Kerne ältere, der Entkernung näher stehende Normoblasten darstellt, an denen oftmals schon die ersten degenerativen Veränderungen in Form der Pyknose erkennbar sind.

Pyknose.

Auch Erythroblasten-Mitosen lassen sich im peripheren Blute nicht zu selten auffinden; ich erinnere mich an sehr schöne Bilder, besonders bei myeloiden Leukämien, dann bei perniziöser Anämie, Knochenmarkskarzinose und schweren anämischen Zuständen des Kindesalters. Nochmals will ich betonen, daß gerade das Protoplasma derartiger in Mitose befindlicher Zellen zumeist stark polychromatophil ist; auch basophile Körnung habe ich dabei gesehen. Wie gesagt, handelt es sich in solchen Fällen regelmäßig um die Anwesenheit sehr vieler und morphologisch sehr verschieden gestalteter Erythroblasten im Blute; es ist dann einfach ausgeschlossen zu sagen, ob man es mit einer Normoblasten- oder Megaloblastenmitose zu tun hat; bedeutend größer als die ruhenden Zellen sind sie samt und sonders.

Kernteilungsfiguren.

Gerade in diesen letzterwähnten Fällen schwerer Anämien mit vorgeschrittener und schwerer Veränderung des Knochenmarkes finden wir auch atypische Kernbilder, die zum

Atypische Kernbilder:

Teile in ihrer Deutung noch nicht einmal klar sein dürften. Die Befunde bewegen sich in verschiedener Richtung: zum Teile weisen sie auf Kernaustritt hin und lassen alle Phasen dieses Vorganges verfolgen, zum Teile dürften sie Produkte einer direkten Kernteilung, Kernknospung oder Sproßung darstellen; ein letzter Teil ist sicher der Ausdruck des Kernzerfalles: Karyorrhexis und Kernfragmentierung, oder des einfachen Kernschwundes: Karyolysis.

a) Kernaustritt,

Die Bilder des Kernaustrittes betreffen zumeist Zellen mit kleinem, oftmals pyknotischem Kerne. Zunächst wird die Lagerung des Kernes eine exzentrische; er nähert sich immer mehr und mehr dem Zellrande, den er schließlich erreicht. Dann wird der Zellrand an dieser Stelle ausgebuchtet, dann sieht man gar nicht selten, wie der Kern bereits mit der einen Hälfte aus der Zelle direkt heraussieht, schließlich kann man sehen, daß der Kern bereits außerhalb der Zelle liegt, aber mit ihr noch durch einen kleinen Protoplasmastrang in Zusammenhang steht, und endlich liegt er ganz frei neben der Zelle oder irgendwo inmitten eines Plasmaraumes ohne erkenntliche Zugehörigkeit zu irgend einer Zelle. Ich wiederhole, daß solche Bilder an durchaus tadellosen Präparaten beobachtet werden, wo vom „Ausdrücken" des Kernes keine Rede sein kann, wo also der tatsächlich spontan erfolgende Kernaustritt keinem Zweifel unterliegt.

Durch die fortlaufende Reihe dieser Bilder, die man sich ganz ohne Mühe, z. B. in einem Präparate von Knochenmarkskarzinose nacheinander zusammenstellen kann, wird auch die Behauptung von Israel und Pappenheim entkräftet, daß die freien Kerne durch degenerativen Schwund ihres Protoplasmas entstanden seien. Der freie Kern ist als solcher an der ungeheuren Färbungsstärke und seiner Kleinheit ebensowohl als an den kleinen ihm noch immer anhaftenden Resten hämoglobinhaltigen Protoplasmas leicht zu erkennen.

Eine zweite Reihe von Bildern zeigt eigenartige Veränderungen der äußeren Kernform von größerer oder geringerer Gesetzmäßigkeit der Entwicklung.

b) direkte Kernteilung,

Zunächst sieht man gar nicht selten, daß eine etwas vergrößerte Zelle zwei vollkommen typische Normoblastenkerne enthält mit wundervoll zierlicher Kernfigur, und hie und da kann man auch nachweisen, daß diese beiden Kerne durch eine schwach basisch gefärbte schmale Brücke mit-

einander zusammenhängen. Diese Bildungen kann man bei der vollständigen Klarheit und Regelmäßigkeit der Kernstruktur und der wohlerhaltenen Form wohl nicht als Produkte eines degenerativen Kernzerfalles betrachten, sie machen vielmehr durchaus den Eindruck einer direkten Kernteilung, wie sie für die Normoblasten ja gerade im Markgewebe selbst der häufigere Vermehrungstypus sein soll.

Andere Bilder sind schon weniger eindeutig: Zwerchsackartige Kerneinschnürung, aber mit Abgrenzung ungleicher Teile; dann Bilder, welche völlig einer kleinen Hefekolonie gleichen, zwei, drei, vier ellipsoidische oder länglichrunde Kernstücke, welche noch durch ziemlich breite Brücken miteinander in Verbindung stehen, und von denen einzelne wieder kleine Kernwandsproßungen aufweisen können, so daß äußerst komplizierte und zierliche Bilder entstehen, welche an vielfach gegliederte Insektenleiber erinnern. Endlich kommt es geradezu typisch zur Bildung äußerst regelmäßiger Rosetten, derart, daß vier, sechs und mehr fast gleich große oder wenig verschiedene Kernfragmente mit breiter wohlgerundeter Basis nach außen und fein zulaufender Spitze nach innen in regelmäßiger Anordnung wie Blumenblätter um ein Zentrum gelagert sind, in welchem ihre fädig ausgezogenen Spitzenanteile sich miteinander vereinen. Trotz aller Regelmäßigkeit in der Anordnung sind wohl alle diese Bilder doch als Ausdruck eines die Kernwandung überschreitenden Kernzerfalles anzusehen, welche vielleicht der endgültigen Auflösung des Kernes innerhalb der Zelle vorausgehen. Als zweifellose Produkte des Kernzerfalles sind endlich jene ganz unregelmäßigen Bilder zu betrachten, wo neben einem Hauptkerne mehrere kleine, offenkundig abgesprengte Kernpartikel pyknotischer Färbung im Zellprotoplasma liegen. c) Karyorrhexis.

Das sind die häufigsten Veränderungen, welche im kreisenden Blute an Normoblastenkernen zu sehen sind. Ich muß zugeben, daß Bilder von reiner intranukleärer Karyorrhexis oder von rein degenerativem Kernschwund nur sehr selten zu sehen sind, wenn ich auch gelegentlich einmal solche Bilder beobachten konnte.

Eine letzte Reihe von Bildern stellt bereits Abweichungen vom Zelltypus des Normoblasten dar und vermittelt gewissermaßen eine Annäherung an den Typus der Megalo- d) Übergänge zum Megaloblastentypus.

blasten. Ich ziehe es vor, von diesen Zellen erst dann zu reden, wenn ich die Megaloblasten werde besprochen haben.

Mikroblasten.

Auch das Gegenteil kommt hie und da vor: eine ausgesprochene Verkleinerung der ganzen Zelle, des Kernes sowohl wie des Protoplasmas. Man hat diese Zwerge als „Mikroblasten“ bezeichnet. Irgend eine theoretische oder praktische Bedeutung kommt ihnen aber wohl nicht zu.

Verhalten bei den Färbungen:

Ich muß nunmehr noch einige Bemerkungen über das Verhalten der Normoblasten gegenüber den verschiedenen Färbemethoden anfügen.

a) mit Triazid,

Da es sich in erster Linie um Kerncharakteristik handelt, wird das Triazid ein weniger geeigneter Farbstoff zur schönen Darstellung der Erythroblastenbilder sein. Das Methylgrün färbt die Kerne fast immer blaß, häufig gelingt es nicht, die Kernstruktur durch färberische Hervorhebung des oxychromatischen Kernsaftes zur Darstellung zu bringen, sondern die Kerne sehen dunkel blaugrün und homogen aus. Daraus sollte man ja nicht auf Pyknose schließen. Bei sehr starker Hitzefixation erscheint das Chromatin zwar sehr schwach hellgrün gefärbt, aber man kann jetzt wenigstens die Kernstruktur in mehr oder minder guter Andeutung sehen. Das Zellprotoplasma zeigt bei Triazid sehr häufig den schwach hellrötlichgelben polychromatischen Farbenton, ein andermal ist die Polychromasie durch düstere Braunfärbung stark hervorgehoben. Mitosen sind stets mangelhaft gefärbt. Im allgemeinen empfiehlt sich das Triazid nicht für Färbungen, bei welchen es auf kernhaltige Erythrozyten ankommt.

b) mit Hämatoxylin-Eosin und Hämatoxylin-Pikrinsäure,

Sehr schöne Bilder hingegen geben alle übrigen gewöhnlichen Färbemethoden, insbesondere ist als Kernfärbungsmittel unübertroffen das Hämatoxylin; nur eine wohlgelungene Färbung nach Romanowsky kommt ihm nahe. Die Kernstruktur tritt bei Färbung mit Hämatoxylin-Eosin oder Hämatoxylin-Pikrinsäure in größter Deutlichkeit hervor, der Kern ist durch starke Färbung äußerst lebhaft von dem mattroten oder leuchtend roten Protoplasma abgehoben. Hingegen leidet die Darstellung der Polychromasie und der eventuellen Punktierung. Nur wenn man besonders lange mit Hämatoxylin vorfärbt, sind beide auch hier gut zum Ausdrucke zu bringen — schöner immer bei Nachfärbung mit Pikrinsäure, weil diese den einmal aufgenommenen Hämatoxylinfarbenton weniger deckt als das Eosin.

Bezüglich Polychromasie sind die Eosin-Methylenblaufärbungen ideal. Ich kann Ihnen da speziell das Vorgehen nach Müllern wieder empfehlen. Wenn man sich genau an die Vorschrift hält, kommen Kernstruktur sowohl als Polychromasie ganz vortrefflich zum Ausdrucke. So scharf wie bei Hämatoxylindoppelfärbungen ist allerdings bei allen Methylenblaufärbungen die Abgrenzung des Kernes nicht, insbesondere nicht bei polychromatischem Protoplasma. Schärfere Kernabgrenzung gibt wieder irgend eine der Ausführungen der Methode von Romanowsky. Ich habe mit Reuters Farbstoff ganz unvergleichlich schöne Erythroblastenbilder bekommen. Der Kern ist immer schön und durch seine äußerst stark rotviolette Färbung scharf hervorgehoben; nur die Färbung der Polychromasie des Protoplasmas wechselt etwas. Werden mit dem verwendeten Farbstoffe die Erythrozyten stark rot gefärbt, so sind Polychromasie und Punktierung gewöhnlich nur wenig deutlich zu sehen; bei blaßer Rosa- oder Graurotfärbung der Erythrozyten dagegen tritt zumeist die Polychromasie ganz außerordentlich prägnant hervor. Daß auch bei Anwendung meiner Methylenblau-Jod-Mastzellenfärbung die Erythroblasten ganz prächtig zur Darstellung kommen, habe ich bereits einmal hervorgehoben.

c) mit Eosin-Methylenblau.

d) nach Romanowsky.

e) mit Methylenblau-Jod.

Ebenfalls nur zu erinnern brauche ich Sie daran, daß man die Normoblasten an der ungemein lebhaften Färbung und der schwarzrandigen Abgrenzung auch im Leukozytenzählpräparate erkennen kann. Manchmal ist es von Interesse, die Zahl der Erythroblasten zu kennen. Man bemühte sich dann bisher, im Trockenpräparate eine Verhältniszahl von Erythroblasten zu Leukozyten oder gar eine solche von Erythroblasten zu Erythrozyten zu gewinnen. Wer ein bischen Übung und einen sicheren Blick hat, kann diese langwierige Differentialzählung völlig entbehren, wenn er das Leukozytenzählpräparat mit entsprechender Aufmerksamkeit durchmustert. Man braucht dann nicht mit den vagen Verhältniszahlen Kh:W oder Kh:R zu rechnen, sondern kann unmittelbar die absolute Zahl der Erythroblasten bestimmen.

Erkennung im Leukozytenzählpräparate.

Der Megaloblast

ist eine kernhaltige rote Blutzelle von abnormer Größe, ausgestattet mit einem großen, chromatinarmen, dementsprechend

minder scharf abgegrenzten, aber ganz außerordentlich deutlich strukturierten (gezeichneten) Kerne.

Größe. Die Größe ist nun zunächst für die Diagnose „Megaloblast“ viel weniger maßgebend, als man nach dem Namen erwarten müßte. Ich kann als Megaloblasten auch eine sicher vergrößerte Zelle nur dann gelten lassen, wenn sie in ihrem allgemeinen Zellcharakter vom Normoblastentypus sichtlich abweicht und die Kennzeichen des megaloblastischen Zelltypus an sich trägt. Diese Kennzeichen liegen aber weniger in der Größe als in dem ganz außerordentlich hervorstechenden Verhalten des Kernes. Dieser ist unter allen Umständen gegenüber dem Normoblastenkerne ausgesprochen chromatinarm; er ist zumeist noch blässer gefärbt als die chromatinärmsten Leukozytenkerne. Er ist an sich von beträchtlicher absoluter Größe und zeigt in seinem Innern ein ganz besonders feines und, mit Ausnahme von zwei bis drei etwas dichteren Knotenpunkten, sehr gleichmäßig verteiltes Netzwerk von zarten Chromatinbälkchen, welche sich am Rande nur zu einer wenig markanten, dünnen Kernwandschichte vereinen und bei jeder Färbung im Kerninnern äußerst deutlich von einer oxyphilen Substanz allseits umgeben sind. Das ganze sieht im mikroskopischen Bilde wie ein feinporiger Schwamm aus, dessen Substanz das Chromatin darstellt, während der oxyphile Kernsaft alle Poren durchdringt und erfüllt. Eine gleiche Deutlichkeit und Zierlichkeit der Struktur gibt es bei keinem einzigen anderen Kerne des Blutes und der blutbereitenden Organe, und an ihr allein kann man ganz ohne Rücksicht auf Protoplasma und Zellgröße den Megaloblasten erkennen.

Kern.

Das Verhältnis zwischen Kern und Protoplasma in bezug auf Größe schwankt auch bei den Megaloblasten. Die besonders großen Zelltypen haben zumeist auch ein großes Protoplasma, doch kommen andererseits vielfach Zellen vor, deren Hauptmasse der Kern ausmacht, indem sich um ihn nur eine schmale Protoplasmaschichte lagert; und zwischen diesen beiden Zelltypen finden sich alle fließenden Übergänge, so daß es wohl klug ist, auch hier aus dem gegenseitigen Verhältnisse beider Zellteile keinen weiteren Schluß zu ziehen — nicht einmal auf das Alter der Zelle.

Bei gut erhaltenen Exemplaren ist die Abgrenzung des Kernes eine ganzrandige; sie tritt zwar nicht scharf hervor, um so weniger, als das Zellprotoplasma fast ausnahmslos in beträchtlichem Grade polychromatisch ist, aber sie ist bei einiger Aufmerksamkeit überall in zweifelloser Weise festzustellen. Die Polychromasie des Zelleibes erreicht in vielen Fällen den höchsten Grad, den man sich überhaupt denken kann. Bei wohlgelungenen Eosin-Methylenblaufärbungen ist in solchen Zellen von saurem Farbstoffe nur gerade noch ein leiser Hauch zu merken, indessen der basische Farbstoff den ganzen Zelleib dicht und dunkel imprägniert, so daß das Protoplasma wesentlich stärker basisch gefärbt erscheint als der infolge der Farbenmischung wenig hervorstechende Kern. Protoplasma.

Manchmal könnte es bei solcher Färbung Schwierigkeiten bereiten, einen Megaloblasten von irgend einer pathologischen einkernigen leukozytären Zelle mit stark basophilem Protoplasma zu unterscheiden, wenn nicht die außerordentlich typische Kernstruktur sogleich jeden Zweifel beseitigen würde. In solchen Fällen kann es auch für den ersten Augenblick schwer sein, Kern und Protoplasma voneinander zu scheiden, namentlich dann, wenn der Kern, wie man das so häufig findet, degenerative Veränderungen eingegangen ist. Nun, das sind aber Extreme, die man zwar öfters, aber doch nicht regelmäßig zur Beobachtung bekommt. Färbungen.

Für gewöhnlich ist die Polychromasie des Protoplasmas nicht so weit vorgeschritten; es handelt sich dann bei Eosin-Methylenblaufärbung um ein schönes Rot- oder Bläulichviolett, von dem sich der rein blau und rot gemischte Kern trotz seiner Blässe noch ganz gut abhebt. Noch schöner als bei Eosin-Methylenblaufärbung tritt die Kernstruktur zumeist bei Hämatoxylin-Eosinfärbung hervor; da sieht man jedes einzelne Fäserchen, und namentlich die zwei oder drei Chromatinknotenpunkte, die regelmäßig vorhanden sind und ein etwas dichteres Gefüge erkennen lassen, treten deutlich hervor. Auch die Kernabgrenzung ist hier mit wenigen Ausnahmen eine bessere, nicht nur weil die Chromatinsubstanz besser gefärbt ist, sondern wegen der immer mehr zurücktretenden Polychromasie des Protoplasmas. Das ist auch die einzige Färbung, bei welcher manchmal sonst typische Megaloblasten noch orthochromatisch zu sein scheinen. Triazid und Romanowsky färben die Polychromasie schon wieder

wesentlich schöner und vollkommener; das Triazid ist aber aus den schon oben erwähnten Gründen auch für die Megaloblastenfärbung nicht zu empfehlen, und bei Anwendung des Reuterschen Gemisches ist es manchmal für einen Mindergeübten wegen des eigenartigen, vorwiegend basischen Tones in der Färbung des Protoplasmas nicht leicht, die Trennung gegenüber einkernigen Leukozyten sicher durchzuführen; bei Beachtung der Kernstruktur ist auch diese Klippe zu umgehen. Übrigens ist das nur bei mancher Färbung so; andere Fläschchen der Grüblerschen Farbstofflösung kennzeichnen auch hier ganz scharf.

Zellform. Ich brauche wohl nicht hervorzuheben, daß auch beim Megaloblasten die Zellform durchaus nicht immer eine runde ist. Im Gegenteile: ovoide und sonst sphärische Formen sind häufig, ebenso erscheinen die Zellen bei ihrer besonderen Größe oft in die Länge gezogen oder irgendwo durch Nachbarzellen plattgedrückt. In ihrem Protoplasma ist Unregelmäßigkeit der Struktur und Zerklüftung nicht selten zu finden.

Mitosen. Bezüglich Mitosen gilt das für die Normoblasten Gesagte: Mitosen sind immer ganz auffällig groß und die Scheidung zwischen Normo- und Megaloblasten ist wohl kaum durchzuführen. Immerhin scheinen sie in Megaloblasten sogar häufiger vorzukommen als in der ersteren Zellart.

Kern-degeneration. Degenerative Veränderungen des Zellkernes sind ebenfalls oft zu beobachten. Sie äußern sich vor allem in karyolytischem Chromatinschwund. Häufig sieht man auch abgesprengte Kernfragmente im Protoplasma der Zelle liegen, oder es ist die Kernwandzone an irgend einer Stelle aufgefasert, so daß zwischen dem Kerne und dem dunklen polychromatischen Protoplasma gar keine sichere Grenze mehr zu ziehen ist. Kurzum: Hier sind die Bilder der Kernresorption auch im kreisenden Blute klarer und häufiger zu sehen als bei den Normoblasten. Es dürfte jedoch auch hier Kernausstoßung vorkommen. Wenigstens ist es mir einige Male gelungen, freiliegende Kerne mit Spuren anhaftenden Protoplasmas nach ihrer Größe und Struktur mit voller Sicherheit als Megaloblastenkerne zu agnoszieren. Allerdings wird es hier einerseits bei der besonderen Zellgröße schwer fallen, traumatischen Einfluß auszuschließen, und andererseits könnte für diese Fälle der Einwand von Israel-Pappenheim, daß die Kerne durch Protoplasmazerfall frei geworden sind, mit etwas mehr scheinbarer

Berechtigung erhoben werden. Aber ich sage auch hier nur scheinbar: Denn mag auch der Megaloblasten l e i b weniger widerstandsfähig sein als der eines Normoblasten, so gilt doch das gleiche in mindestens demselben Ausmaße vom Megaloblasten-k e r n e, und es wäre auch hier ein annähernd gleichmäßiges Zugrundegehen beider plausibler.

„Gigantoblasten."

U n d j e t z t e r s t, ganz zum Schlusse, k o m m e i c h w i e d e r a u f d i e G r ö ß e z u s p r e c h e n. Gewöhnlich sind jene Zellen, deren morphologische Eigenschaften ich Ihnen jetzt möglichst anschaulich zu schildern bestrebt war, bedeutend größer als ein normales rotes Blutkörperchen, ja ihr Durchmesser erreicht gar nicht so übermäßig selten die enorme Größe von 18 bis 20 μ — das sind also wahre „G i g a n t o b l a s t e n" — und für gewöhnlich steht er etwa zwischen 12 und 15 μ. Aber es gibt auch kleinere Zellen, welche die obere Grenze der Normoblastengröße kaum wesentlich überschritten haben, und doch mit Rücksicht auf ihren gesamten Zellcharakter bereits als Megaloblasten bezeichnet werden müssen, wie es andererseits noch zahlreichere Zellen gibt, welche eine gleiche Größe besitzen, aber einen so klassischen kleinen dunkelfärbigen Kern tragen, daß ich meiner Überzeugung und meiner Auffassung von den wesentlichen Kennzeichen einer Zelle Gewalt antun müßte, sollte ich sie allein ihrer Größe wegen als Megaloblasten bezeichnen.

Vermittelnde Zelltypen zwischen Normo- und Megaloblasten.

Wenn dies nur die einzigen Schwierigkeiten wären, welche sich einem bei der Benennung kernhaltiger Erythrozyten in den Weg stellen, so lägen die Verhältnisse einfach und zumeist klar, und man könnte sogar, trotz der nicht eben irgendwo sicher zu fixierenden Größenscheidewand die beiden Zellarten der Normo- und der Megaloblasten als wirklich wesensverschiedene Gebilde anerkennen. Aber dem ist nicht so. Ich habe vor mir ein Präparat einer schweren Kinderanämie (Anaemia infantum pseudoleukaemica), eines von Knochenmarkskarzinose, eines von myeloider Leukämie und eines gar von perniziöser Anämie, mit terminaler Pneumonie kompliziert — und in jedem dieser Präparate können Sie mir leicht bei zehn oder zwanzig und mehr Zellen arge Verlegenheiten bereiten, wenn Sie mich fragen: „Was ist das, ein Normo- oder ein Megaloblast?" Ich müßte Ihnen antworten: „Das ist ein Erythroblast von dieser und dieser Beschaffenheit; ob man ihn noch Normoblast oder schon Megaloblast nennen will, ist reine Geschmacks- und Auffassungssache." Wenn man will,

Gehäuftes Vorkommen solcher.

kann man in jedem derartigen Präparate eine untadelige Serie von Zellen herstellen, welche zu beweisen scheint, wie ein Normoblast sich in einen Megaloblasten umwandelt oder umgekehrt, und Sie werden nicht die kleinste Lücke in dieser Reihe finden. Morphologisch können wir also wohl mit Leichtigkeit das wohlausgebildete typische Exemplar jeder der beiden Zellformen als solches erkennen und sie gegeneinander differenzieren. Aber sie stellen die Endpunkte einer Differenzierungsreihe dar, in welcher die verbindenden Mittelglieder nicht etwa ausgestorben sind, sondern gerade häufig genug auf der Bildfläche erscheinen, um uns vor einer unberechtigten scharfen Trennung und schematisierenden Auffassung zu schützen.

Bedeutung dieser Zellformen.

Es liegt mir durchaus ferne, etwa anzunehmen, daß sich wirklich die eine Zelle aus der anderen entwickle. Sie entstehen gewiß getrennt nebeneinander im Markgewebe. Es geht dort alles bunt durcheinander, so ungefähr wie kurze Zeit nach der Entwicklung des Knochenmarkes im embryonalen Leben, wo der alte provisorische megaloblastische Blutbildungstypus noch nicht verschwunden ist und der neue normoblastische noch nicht die volle Herrschaft erreicht hat. Verständlich wird uns ein solches Nebeneinander verschieden ausgebildeter Zellformen, wenn wir uns in Erinnerung rufen, daß in solchen Fällen schwerer Reizung und Schädigung der Markfunktion, wo ja ausschließlich solche Bilder zustande kommen, die Blutbildung gewiß in überstürzter Weise auf ganz verschiedenen Wegen erfolgt: Die Normoblasten mit ihrer Vermehrungsfähigkeit durch Teilung reichen nicht mehr aus, um das Zellbedürfnis des Organismus zu befriedigen, es werden also vermutlich die im Markgewebe immer vorhandenen einkernigen undifferenzierten hämoglobinfreien Zellen als Hilfstruppen zur Erythroblastenbildung herangezogen, so wie im fötalen Leben, neues Markgewebe bildet sich aus früherem Fettmarke, und alle die derart entstandenen Produkte vermehren sich wieder. Daß in solchen kriegerischen Zeiten nicht lauter schulmäßig ausgebildete Musterexemplare geliefert werden, wird wohl niemanden wundernehmen.

Kränken Sie sich also nicht darüber, wenn Sie einmal nicht imstande sind, mit gutem Gewissen einen Erythroblasten nach einem der beiden Typen: Normo- oder Megaloblast zu definieren, sondern beschreiben Sie einfach die Zelle; und wenn jemand schon unbedingt einen Namen haben muß, so soll er sich ihn

selber wählen nach seinem Geschmacke. Gebrauchen Sie das Wort Megaloblast dort, wo der oben beschriebene unverkennbare vollentwickelte Zelltypus dieser Art vorliegt, und das gleiche tun Sie mit dem Worte Normoblast. Aber hüten Sie sich, jede Zelle nur deshalb, weil sie um 2 oder 3 μ größer erscheint als ein normaler Erythrozyt, schon als Megaloblasten zu bezeichnen. Der Name hat den unheimlichen Beigeschmack unheilvoller, wo nicht unheilbarer Erkrankung und muß, wenn er klinisch überhaupt seine Existenzberechtigung haben soll, wesentlich mehr beinhalten als sein Wortsinn sagt.

Bedeutung der megaloblastischen Umwandlung des Markgewebes.

Eine spezifische Bedeutung kommt dem Megaloblasten, auch dem wohlausgebildeten, keinesfalls zu. Sein zahlreicheres Vorkommen im Marke und die damit gewöhnlich auch in einem ganz unbestimmbaren Verhältnisse verbundene Ausschwemmung ins kreisende Blut bedeuten lediglich so viel, daß eine so schwere Schädigung und Reizung des Knochenmarkes vorliegt, daß seine Funktion auf die Stufe jener frühen Lebensperioden zurückversetzt wird, wo aus anderen Gründen eine ganz enorm lebhafte Blutneubildung statthatte. Je schwererer Art die Schädigung ist und je länger sie im allgemeinen dauert, desto ausgebreiteter und auch desto höhergradig wird die pathologische Umwandlung des Markes sein. Sie muß ja nicht immer gleich den Zustand der frühesten Blutbildungsperiode des embryonalen Lebens erreichen, sie kann gewiß auf einer etwas höheren Stufe verharren: vorwiegend normoblastische Regeneration, zahlreiche Zwischenstufen, aber nur spärlichere und nicht extreme Megaloblasten. Solche Zustände sehen wir nicht selten; die Knochenmarkskarzinosen, die myeloiden Leukämien, viele schwere Anämien des Kindesalters, akutere Lymphomatosen gehören häufig hieher.

Aber von hier zum überwiegend megaloblastischen Regenerationstypus ist nur ein kleiner Schritt, der auch bei den genannten Krankheiten in fortschreitender Entwicklung gemacht werden kann, und den die echte perniziöse Anämie auffällig früh zu tun pflegt. Insoferne nimmt sie ja wirklich eine Sonderstellung ein. Nicht, daß die Megaloblasten an sich für sie charakteristisch wären; aber die frühzeitige und ganz enorm ausgebreitete megaloblastische Umwandlung des Markgewebes, welche sich nicht nur in den wenigen Megaloblasten des peripheren Blutes, sondern im ganzen Zelltypus auch der kernlosen Elemente zu erkennen gibt, sind Eigenarten der Wir-

kung ihrer unbekannten Noxe, die wegen ihres einzigartigen Vorkommens sehr wohl den Wert eines „pathognomonischen Symptoms von höchster Prägnanz" für sich in Anspruch nehmen dürfen.

Die Blutplättchen.

Im Anschlusse an die Besprechung der roten Blutkörperchen muß ich nun auch einige Bemerkungen über die Blutplättchen einflechten, da sich diese unscheinbaren Elemente gerade in den letzten Jahren wieder einer erhöhten Aufmerksamkeit von Seite der Pathologen erfreuen, und doch, wie es scheint, wesentliche Schritte gemacht wurden, um in ihre dunkle Existenz einiges Licht zu bringen.

Ältere Anschauungen über die Bedeutung der Plättchen: a) Hayem.

Bekanntlich hat Hayem diese Gebilde, welche allerdings auch schon vor ihm gesehen worden waren, zuerst als einen belangreichen und der Beachtung würdigen Bestandteil des menschlichen Blutes erkannt, und er hat ihnen sogleich eine besonders hohe Bedeutung beigelegt. Nach ihm sind sie die eigentlichen „Hämatoblasten", die Vorstufen der roten Blutkörperchen. Allerdings ist Hayem mit dieser Meinung vereinzelt geblieben, und heute ist es wohl zur Sicherheit erwiesen, daß die Plättchen mit der Bildung der roten Blutkörperchen eben gar nichts zu tun haben. Bald nach Hayem hat Bizzozero die Plättchen als einen selbständigen Formbestandteil des Blutes und als eigenartige zellige Gebilde angesprochen und ihnen eine Rolle bei der Thrombenbildung und Blutgerinnung zugeschrieben. Seither schwankten die Meinungen über unsere Plättchen. Eine Reihe von Forschern sah in ihnen gleich Bizzozero selbständige Elemente, andere leiteten sie von den Leukozyten ab, andere von den Erythrozyten, wobei sie wieder zum Teile als Produkte des Kernzerfalles, zum Teile aber als Produkte einer protoplasmatischen Abschnürung betrachtet wurden.

b) Bizzozero.

Neuere Anschauungen: a) Engel, Maximow, Pappenheim.

Engel, Maximow, Pappenheim und einige andere Autoren halten die Blutplättchen für ausgestoßene „Innenkörper" der roten Blutkörperchen, welche nach der bereits oben gegebenen Schilderung den „unverdaulichen Rest" der im übrigen innerhalb der Zelle aufgelösten und resorbierten Kerne darstellen. Die Autoren haben zum Teile direkt, zum Teile unter dem Einflusse chemischer Agentien den Austritt von Blutplättchen aus den Ery-

throzyten beobachten können. Auch Arnold gibt diese Möglichkeit zu, hält jedoch insbesondere dafür, daß Blutplättchen durch Abschnürung kleiner Protoplasmateile der Erythrozyten entstehen.

So stand die Lehre durchaus ungeklärt, als Deetjen*) im Jahre 1901 an die Frage mit ganz neuer Methodik heranging und zu einigermaßen überraschenden Resultaten kam. Er fand, daß Natriummetaphosphat ($NaPO_3$) in einer Konzentration von etwa 0,6%, zugleich mit 0,6% Kochsalz und 0,3% Dikaliumphosphat (K_2HPO_4) dem Agar zugesetzt, die Blutplättchen lange Zeit lebend erhalte, und studierte auf Objektträgern, welche er mit diesem Agargemisch beschickt hatte, auf dem heizbaren Tische die Lebensäußerungen der Plättchen. Er fand, daß die Plättchen bei ihrer gewöhnlichen Größe (1—3 μ) und ihrer rundlichen oder ovalen Form sich in einem Kontraktionszustande befinden, den sie auf dem Agargemische bald aufgaben. Sie wurden größer, zeigten lebhafte amöboide Bewegung sogar mit Ortsveränderung, und ließen jetzt in ihrem Innern, umgeben von einem blassen Protoplasma, einen stark lichtbrechenden kernartigen Innenkörper erkennen. Durch 1%ige Osmiumsäure konnte er sie in diesem amöboiden Zustande fixieren, und es gelang ihm auch, sie bei sorgfältiger Behandlung zu färben. Der rundliche Innenkörper färbte sich leicht und stark mit Hämatoxylin und mit Methylenblau, das Protoplasma nahm Eosin auf. Auf Grund dieser Befunde kommt Deetjen zu dem Schlusse, daß die Plättchen keinesfalls Degenerationsprodukte der anderen Blutzellen darstellen können, sie müssen vielmehr wahrscheinlich als ganz selbständige lebende Elemente mit Kern und Protoplasma und mit der Fähigkeit amöboider Bewegung angesehen werden. Eine Stütze für seine Anschauung fand Deetjen darin, „daß die ‚Spindelzellen‘ niedriger Vertebraten, welche mit den Blutplättchen in Analogie gesetzt werden, zweifellos zellige Gebilde sind“. b) Deetjen, Dekhuyzen u. a.

Zu ganz analogen Schlüssen kommt unmittelbar darauf Dekhuyzen**), der eine andere Untersuchungsmethodik in äußerst sorgfältig bereiteten, streng isosmotischen Kochsalzlösungen übte und ebenfalls Färbungen vornahm. Er nennt die

*) Virchows Archiv. Bd. 164, Heft 2, 1901.
**) Anatomischer Anzeiger. Bd. 19, 1901.

Plättchen bereits „Thrombozyten". Ebenso Kopsch *), welcher empfiehlt, zum Studium der Plättchen in der Weise vorzugehen, daß man auf die zum Einstiche gewählte Stelle der Haut einen Tropfen einer 1—2%igen Osmiumsäure oder einer Jodkaliumlösung bringt und nun durch diesen Tropfen erst den Einstich macht. Das hervorquellende Blut mengt sich sofort mit der Fixationsflüssigkeit und wird zwischen Objektträger und Deckglas untersucht. Auch seine Schlüsse stimmen genau mit denen der beiden letztgenannten Forscher überein. Im speziellen stellt Kopsch fest, daß die Plättchen bei der Fibrinbildung ganz wesentliche Veränderungen durchmachen, indem ihr Kern nach vier bis fünf Minuten zerfällt; es bilden sich Vakuolen, und an den buckligen Fortsätzen, welche die so veränderten Blutplättchen zeigen, schießen Fibrinfäden an. Eine Abhängigkeit der Fibrinbildung von dem Zerfalle der Plättchen aber kann er nicht beweisen. Diesen beiden Forschern schließt sich Argutinsky**) an, der bei Nochtscher Färbung in sorgfältig hergestellten Präparaten in den rundlich gebliebenen Plättchen einen stark rotviolett gefärbten, scharf abgegrenzten inneren Teil und einen blassen, hellblauen peripherischen Saum darstellen konnte. In minder gelungenen Präparaten gelang diese Unterscheidung nicht so scharf, doch fanden sich im Innern des Protoplasmas dicht gestellte rotviolette Körnchen.

In neuester Zeit neigt auch P. Morawitz ***) zu der Meinung hin, daß die Plättchen selbständige Elemente seien, denn sie enthalten große Mengen von „Thrombogen", einer für die Bildung des Fibrinfermentes unerläßlichen Substanz, und sie sind die einzigen Zellen, in denen diese Substanz bisher nachgewiesen werden konnte (siehe oben). Diese Eigenschaft spricht ihm gegen die Ableitung der Plättchen von weißen oder roten Blutkörperchen.

Doch ist auch diese neue Lehre nicht etwa als feste, gegebene Tatsache hinzunehmen. Eine Reihe neuester Publikationen kehrt trotz dieser Untersuchungen wieder zu der alten Annahme von der degenerativen Natur der Blutplättchen zurück, und man hört wohl auch der Überzeugung Ausdruck geben, daß man wahrscheinlich recht verschiedene Dinge, welche miteinander eigentlich nichts zu tun haben, unter dem gemeinsamen Namen der

*) Anatomischer Anzeiger. Bd. 19, 1901.
**) Ebendort.
***) Deutsches Archiv für klinische Medizin. Bd. 79, 1904.

Blutplättchen zusammenfasse. Insbesondere aber erscheint die Berechtigung des Namens „Thrombozyten" für die Plättchen zweifelhaft. Schon Arnold und Schwalbe*) haben die Meinung vertreten, daß die Blutplättchen der Säuger nicht den Spindeln des Froschblutes, sondern ähnlichen Abschnürungs- und Abscheidungsprodukten der Froschblutkörperchen homolog seien; diese spielen auch bei der Gerinnung die gleiche Rolle wie die Blutplättchen der Säugetiere. Auch Eisen**) bestreitet, daß die als Thrombozyten bei den anderen Wirbeltieren bezeichneten „Spindeln" unseren Blutplättchen gleich zu setzen sind, da im Blute dieser Tiere auch wirkliche und echte Blutplättchen vorhanden seien.

So stehen heute die Meinungen. Ich muß bekennen, daß ich mich bisher niemals von der Meinung, daß die Blutplättchen keine selbständigen Zellen seien, habe abbringen lassen; mir scheinen doch die Befunde im frischen wie im gefärbten Präparate mit zu großem Gewichte für die Annahme zu sprechen, daß wir es mit Produkten einer regressiven Metamorphose zu tun haben, und ich glaube, daß selbst alle Befunde Deetjens und seiner Nachfolger auch von diesem Standpunkte aus ihre Erklärung finden können. Ich möchte Sie da an die Schilderung erinnern, welche Arnold von seinem „Innenkörper" der Erythrozyten gegeben hat. Dieser stellt nach seinen Angaben den in etwas verschiedenen Stadien der Rückbildung begriffenen Kernrest („Nukleoid") dar, „umgeben von einer mehr oder weniger breiten Zone einer Substanz, welche in einem fädigen Gerüste außer Hämoglobin körnige und hyaline Massen enthält („Paraplasma"). Eine scharfe Trennung beider findet nicht statt; in den Erythrozyten, deren Metamorphose abgeschlossen ist, besteht vielleicht der ganze Innenkörper aus einer mehr oder weniger vollständigen Mischung beider". Eigene Meinung.

Es ist wohl eine gewisse Übereinstimmung zwischen dieser Beschreibung und den Blutplättchenbildern, über welche Deetjen und seine Nachfolger berichten, nicht zu verkennen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß sich in den Plättchen eine kernartige Substanz findet, welche sich mit dem Methylenazur bei der Romanowskyfärbung lebhaft rotviolett färbt, während sie die anderen Kernfarbstoffe nur in recht mangelhaftem Grade auf-

*) Virchows Archiv. Bd. 158, 1899.
**) Zitiert nach: Fol. hämatologica. I., Heft 2, S. 92, 1904.

nimmt; selbst Hämatoxylin und Methylenblau werden nur bei übermäßiger Färbung, welche sonst die Präparate bereits zugrunde richtet, in halbwegs erträglichem Maße aufgenommen; von dem „spezifischen“ Kernfarbstoffe Methylgrün ist erst gar nicht zu reden. Man müßte allen Erfahrungen aus der gesamten Histologie Gewalt antun, wenn man dieses färberische Verhalten als das eines lebens- und entwicklungsfähigen Kernes ansprechen wollte. Wohl aber ist es mit der Annahme eines in weit vorgeschrittenem Zerfalle begriffenen Kernrestes durchaus gut vereinbar. Die mit sauren Farbstoffen färbbare Substanz entspricht wohl den bei der Ausstoßung mitgenommenen Zytoplasmateilen, und ich finde es wiederum begreiflich, daß diese allerdings dem Untergange geweihte Substanz durch einige Zeit noch amöboide Bewegung bewahrt hat. Auch die Argumentation von Morawitz beweist schließlich nicht viel gegen unsere Auffassung; wenn er nur in den Blutplättchen „Thrombogen“ gefunden hat und in den Erythrozyten und Leukozyten nicht, so müßte erst der Beweis erbracht werden, daß auch der durch Hämoglobinauslaugung zugänglich gemachte Innenkörper der Erythrozyten — wo er noch vorhanden ist — tatsächlich kein Thrombogen enthält. Erst dieser Nachweis könnte einiges Gewicht beanspruchen, aber ich glaube, daß selbst, wenn er gelungen wäre, noch immer der Widerspruch des histologischen Befundes würde die Oberhand behalten müssen.

Ich muß mich also vollinhaltlich jenen Autoren anschließen, welche in den Blutplättchen den ausgestoßenen Innenkörper der Erythrozyten erblicken. Ein zwingender Beweis ist ja allerdings noch nicht erbracht, ein abschließendes Urteil wird man also nicht abgeben, aber die Wahrscheinlichkeit ist außerordentlich dafür. Allerdings muß auch ich zugeben, daß wahrscheinlich noch andere Zellabfallsprodukte mit den echten Blutplättchen zusammengeworfen werden, daß sonach nicht einmal eine strenge Einheitlichkeit dieser Gebilde gesichert sei.

Verhalten der Blutplättchen bei den Färbungen.

Ihr färberisches Verhalten im Trockenpräparate habe ich bereits angedeutet. Relativ am besten noch werden die Plättchen durch irgend eine Modifikation der Romanowskyfärbung zur Darstellung gebracht. So typische Bilder mit einem rundlichen, scharf abgegrenzten inneren Teile und einem blassen hellblauen Saume habe ich allerdings nicht erzielt. In meinen Präparaten erscheinen die Plättchen gewöhnlich als eine hellrötliche

krümmelige Masse, welche einmal deutlicher, einmal ganz undeutlich von einem zarten rundlichen Hofe umschlossen wird, dessen ungemein schwachfärbiger Saum bei entsprechender Aufmerksamkeit meist gerade gesehen werden kann. Am besten nimmt man die Anwesenheit einer ungefärbten oder spurweise bläulichen Randzone wahr, wenn ein Plättchen einem Erythrozyten aufgelagert ist. Schöne Blaufärbung des peripheren Saumes habe ich niemals erreicht. Der Gehalt an azurfärbbarer Substanz ist ganz außerordentlich verschieden; man kann in kleinen Gruppen ganz wunderschön sehen, wie manche Einzelindividuen ein stark gefärbtes krümmeliges Zentrum besitzen, während andere als fast farblose, schattenhafte Ringe erscheinen, in derem Innern kaum zwei bis drei winzige Pünktchen zu sehen sind. Bei allen anderen üblichen Färbungen sind die Plättchen äußerst schwach gefärbt, manchmal überhaupt gar nicht oder kaum zu sehen, in anderen Fällen doch deutlich erkennbar und sogar erträglich abgegrenzt; sie weisen immer einen sehr blassen Mischton von basischem und saurem Farbstoffe auf, wobei es auf die Stärke und Dauer der Einwirkung des basischen Farbkörpers ankommt, ob e r oder der saure überwiegt.

Die Form der einzelnen Plättchen ist bei gelungener Färbung zumeist noch halbwegs gut zu erkennen. Dann sind sie oblong oder rundlich oder am Rande etwas gezackt. Mit großer Vorliebe aber liegen sie in kleineren oder größeren Gruppen beisammen, und dann gelingt es zumeist nicht mehr, den Umriß des einzelnen Individuums festzustellen. Ihre Größe mag gewöhnlich zwischen 2 und 3 μ schwanken. Doch kommen wohl auch größere Exemplare vor; manche Beobachter haben „Riesen"-plättchen bis zu Lymphozytengröße beobachtet. Form und Größ

Bis heute interessiert uns p r a k t i s c h an ihnen fast ausschließlich ihre Zahl. Bezüglich der Beurteilung derselben verweise ich auf das bei Besprechung des Nativpräparates Gesagte; unter normalen Verhältnissen soll etwa auf zehn bis zwanzig Erythrozyten ein Blutplättchen kommen. Zahl.

Ganz beiläufig füge ich nur — ohne irgendwie vollständig sein zu wollen — noch an, daß bei einer großen Reihe von Infektionskrankheiten, wie z. B. Pneumonie, Gelenkrheumatismus, Tuberkulose mit Mischinfektion usw., dann bei fast allen Chloranämien „primärer" und symptomatischer Art eine hochgradige Vermehrung der Blutplättchen besteht, oftmals eine förmliche Über-

schwemmung der Präparate mit diesen kleinen Gebilden. Hingegen ist ihre Zahl bei Abdominaltyphus und perniziöser Anämie meistens gering, und namentlich ist ihre außerordentliche Spärlichkeit bei Morbus maculosus und Hämophilie aufgefallen. Ich brauche in diesem Zusammenhange wohl nur an das zu erinnern, was ich bereits im Kapitel Gerinnung hervorhob, daß nämlich die Plättchen zweifellos innig mit der Blutgerinnung verknüpft sind. Es läßt sich das auch ziemlich allgemein, allerdings ohne graduelle Gleichheit, bei allen möglichen Krankheiten feststellen: Wo viele Blutplättchen, dort bildet sich auch gewöhnlich reichlich Fibrin; wo wenig Plättchen, dort ist das Fibrinnetz nur dürftig oder gar nicht zu sehen. Ich betone aber nochmals, daß eine Konstanz dieses Verhältnisses und eine volle Kongruenz ganz gewiß nicht besteht, sondern nur eine Übereinstimmung im großen und ganzen.

Zusammenhang mit der Fibrinbildung.

—

11. Vorlesung.

(Die Leukozytenarten des normalen Blutes.)

Gegenstand unserer heutigen Erörterungen werden die Leukozyten sein. Ich gebrauche den Namen „Leukozyt" ganz allgemein für „weißes (farbloses) Blutkörperchen", schließe also die Lymphozyten dabei mit ein; ich glaube das immerhin betonen zu müssen, weil hie und da auch eine andere Begriffsabgrenzung gebraucht wird.

Ich habe in den vorausgehenden Auseinandersetzungen schon vieles über Leukozyten sprechen müssen und habe manches, was hieher gehört, schon vorweggenommen, insbesondere als ich von der Zählung und Differentialzählung dieser Gebilde, und später, als ich von der Untersuchung des frischen Blutpräparates sprach. Wir haben durch beiderlei Untersuchungen bereits schätzenswerte Aufklärungen über unsere Zellen erhalten. Das klassische Untersuchungsobjekt für sie ist aber das Deckglastrockenpräparat, denn einzig und allein durch die genialen Differentialfärbungen Ehrlichs ist es gelungen, den ersten tieferen Einblick in die Werkstatt und das Getriebe dieser geheimnisvollen, winzigen und doch so mächtigen Schutztruppe unseres Organismus zu gewinnen.

Ich wiederhole zunächst zusammenfassend einiges, was ich bisher schon gesagt habe.

Gesamtzahl. Abhängigkeit derselben von der Verdauungstätigkeit.

Die Gesamtzahl der Leukozyten schwankt beim Erwachsenen bei Ausschluß der Verdauung etwa zwischen 6000 und 9000, und dürfte im Mittel rund 7000 im Kubikmillimeter betragen. Lebhafte Verdauungstätigkeit ist imstande, die Zahl ganz wesentlich über die angegebene obere Grenze emporzutreiben, was immer bei der Untersuchung zu berücksichtigen ist. Zählungen sowohl als Beurteilung der Leukozyten im histologischen Präparate sollen also immer in den Vormittagstunden oder wenigstens zu einer Zeit gemacht werden, wo mindestens vier bis fünf Stunden seit der letzten größeren Mahlzeit verstrichen sind; denn es ändert

sich nicht nur die Gesamtzahl, auch die relativen Werte der einzelnen Leukozytenarten zueinander können eine nennenswerte Verschiebung erfahren. In Fällen, bei denen eine besonders genaue Differenzierung gefordert wird, ist es sogar sehr zu empfehlen, daß die Untersuchung immer früh Morgens bei nüchternem Zustande gemacht werde. Man wird bei diesem Vorgehen die verläßlichsten und im allgemeinen auch die niedrigsten Werte bekommen.

Differentialzählung im Trockenpräparate nach Ehrlich.

Ich will auch jetzt gleich mit kurzen Worten auf die von Ehrlich herrührende Methode der Leukozyten-Differentialzählung im Trockenpräparate eingehen. Oben habe ich schon hervorgehoben, daß diese Art der Untersuchung mühsam, zeitraubend und doch nicht in dem gewünschten Grade verläßlich ist. Unter allen Umständen ist ihr die Differentialzählung im Leukozytenzählpräparate, soweit sie eben dort durchführbar ist, vorzuziehen, und nur für jene Fälle, wo man mit der Kammerzählung wegen vorhandener pathologischer Befunde in großer Mannigfaltigkeit und Zahl sein Auskommen nicht findet, ist die Anwendung der Differentialzählung im Trockenpräparate geboten. Es sind aber hiefür unbedingt eine Reihe von Maßregeln einzuhalten, von welchen ich die folgenden anführe: Zunächst dürfen nur durchaus gut gestrichene und gut, d. h. klar gefärbte Präparate Verwendung finden, und es muß eine Färbung angewendet werden, welche die Unterscheidung womöglich aller Zellformen mit genügender Sicherheit gestattet. Da ist allerdings die Erfahrung des Einzelnen entscheidend: Denn der Geübte kann bei jeder Färbung fast alle Zellen erkennen, auch wenn sie gerade weniger charakteristisch hervortreten. Am meisten werden sich immer, da es doch in allererster Linie auf die granulierten Elemente ankommt, Färbungen mit Triazid oder mit einer jener Eosin-Methylenblau-, beziehungsweise Eosin-Azurmethoden empfehlen, welche eine genügend verläßliche Granulationsfärbung bieten; die Eosin-Methylenblaufärbung nach v. Müllern ist dazu neben dem Triazid ganz besonders geeignet.

Ich selbst habe fast immer zu einer Differentialzählung zwei Deckglaspräparate verwendet, und zwar wo irgend möglich, ein zusammengehöriges Paar, welches also zusammen einen ganzen Bluttropfen enthält. Auf diese Weise konnte ich wenigstens annähernd sicher sein, keine groben Fehler zu machen. Weiters ist es erforderlich, eine große Zahl von Zellen durchzuzählen, ins-

besondere dann, wenn es auf die Bestimmung des relativen Wertes solcher Zellarten ankommt, die nur in geringem Prozentsatze im Blute kreisen, oder wenn man gar aus dem relativen Werte und der gefundenen Gesamtzahl die absoluten Werte der einzelnen Zellarten berechnen will. Man soll meines Erachtens mindestens 500, womöglich aber 1000 Zellen für solche Zählungen verwenden.

Die Zählung selbst habe ich in der Weise vorgenommen, daß ich mit Hilfe eines verschiebbaren Objekttisches mir fortlaufende aneinander grenzende Gesichtsfeldreihen einstellte und die in ihnen gefundenen Zellen einzeln nebeneinander rubrizierte. Bequemer arbeitet man hiebei noch, wenn man durch eine quadratische Okularblende die Randpartien des Gesichtsfeldes ausschaltet, weil die Zählung in diesen besonders anstrengt.

Ehrlichs quadratische Okularblenden.

Ehrlich hat sich für die Bestimmung des Verhältnisses der roten zu den weißen Blutkörperchen (R : W) ein System solcher quadratischer Okularblenden derart konstruieren lassen, daß die Durchmesser der quadratischen Gesichtsfeldausschnitte sich wie 1 : 2 : 3 usw., demnach die Flächen selbst wie 1 : 4 : 9 usw. verhalten. Durch eine Vorrichtung am Okulare können Gesichtsfeldausschnitte verschiedener und bekannter Größe durch einen einfachen Handgriff eingeschaltet werden. Ehrlich ging in der Weise vor, daß er zunächst in einem Gesichtsfelde mit großer Blendenöffnung die weißen und dann an derselben Stelle mit einer kleinen Blende die roten Blutkörperchen zählte. Dann wurde das Präparat verschoben und dieser Vorgang in etwa hundert Gesichtsfeldern wiederholt. Aus den Zellsummen konnte dann unter Berücksichtigung des Größenunterschiedes der Okularausschnitte das Verhältnis R : W festgestellt werden.

Heute sind die Zählmethoden der roten und weißen Blutkörperchen so ausgebildet und so einfach und genau durchführbar, daß man nur im höchsten Notfalle zu einer derartigen mühsamen und doch recht unverläßlichen Methodik greifen wird. Auch hat das Verhältnis R : W überhaupt keinen Wert, wenn nicht wenigstens für den einen Teil die absolute Zahl bekannt ist.

Wenn wir nun heute auch zur Feststellung der absoluten und relativen Zahlenverhältnisse der weißen Blutkörperchen vor allem die Kammerzählung verwenden, so ist damit die Untersuchung des Trockenpräparates auch für die Beurteilung der Leukozyten nicht überflüssig geworden. Ich glaube darüber nicht weiter sprechen zu müssen — Sie werden es sofort sehen, wenn

ich auf die Beschreibung zunächst nur der normalen Leukozytenarten eingehe.

Einteilungsmöglichkeiten:

Als Einteilungsprinzip der weißen Blutzellen können wir vor allem die wesentlichsten Charaktere der zwei Hauptbestandteile der Zelle wählen: des Kernes und des Protoplasmas.

1. nach dem Verhalten des Kernes: a) amblychromatisch und trachychromatisch,

Am Kerne haben wir namentlich die Verschiedenheiten des Chromatingehaltes und seine Form zu berücksichtigen. Die erstere Eigenschaft hat Pappenheim zur allgemeinen Grundlage seiner Zellklassifikation gemacht, ohne daß er dadurch, wie es mir scheinen will, zur Klärung der Leukozytenfrage wesentlich beigetragen hat. Er scheidet nicht nur die Erythroblasten, sondern vor allem auch die Leukozyten in amblychromatische (blaßkernige) und trachychromatische (dunkelkernige) Zellen, und sieht in den ersteren die minderwertige und tieferstehende, also minderdifferenzierte Zellart. Das hat gewiß in vieler Hinsicht seine Berechtigung und kann auch zum Verständnis der Vorgänge in der Entwicklung einzelner Zellarten beitragen. Aber als Einteilungsgrund ist diese Eigenschaft an sich nicht zu brauchen, weil sie gerade Zellformen, welche unmittelbar miteinander zusammenhängen, trennt und einander fremde Gebilde in dieselbe Hauptgruppe zusammenzwängt.

b) einkernig, gelappt kernig, polymorphkernig;

In zweiter Linie kann die Kernform als Grundlage der Einteilung in Betracht kommen. Wir unterscheiden in dieser Hinsicht einkernige, will sagen „einfachkernige", und polymorphkernige Zellen und können als vermittelnde Form zwischen beide Kerntypen den Übergangskern (gelappten Kern) setzen. Unter einkernig verstehen wir eine Zelle mit einem runden, ovalen, leicht nierenförmigen oder irgendwie ganzrandig-rundlichen Kerne, dem man seine einfache Form ohne Mühe ansieht; er kann dabei chromatinarm oder chromatinreich sein. Als polymorphen Kern pflegen wir einen schlanken, vielgestaltigen, chromatinreichen Kern zu bezeichnen, der offenkundig eine Anpassung der Kernsubstanz an die funktionellen Bedürfnisse der Zelle, z. B. an ihre Wandertätigkeit, darstellt. Oftmals sind die Verbindungsbrücken zwischen einzelnen Anteilen des Kernes außerordentlich zart und dünn oder liegen in einer anderen Ebene als die Hauptmasse des Kernes, so daß sie leicht übersehen werden können; gewiß können sie auch schließlich auseinanderreißen oder gerissen werden. Das ist wohl der Grund, warum Zellen mit dieser Kernform ganz all-

gemein auch als „polynukleäre" (multinukleäre) Zellen bezeichnet werden. Man meint damit nicht, wie der Name eigentlich sagt, eine wirkliche Mehrkernigkeit, sondern man denkt höchstens an eine Trennung einzelner Kernanteile. Besser, wenngleich sprachlich ebenso barbarisch gebildet, ist immerhin der Name: polymorphkernig. Gebraucht werden jedoch beide Namen als volle Synonyma.

Der „Übergangskern", der als plumper gelappter Kern zu bezeichnen ist, spielt im normalen Blute eine geringe Rolle, kommt jedoch unter pathologischen Verhältnissen sehr viel häufiger vor. Eine absolute Grenze zwischen ihm und dem polymorphen Kerne ist allerdings nicht zu ziehen, wenn wir auch sagen, der Übergangskern ist plump. Ist er zugleich, wie im normalen Blute stets, chromatinarm, so wird die Charakteristik schon schärfer, und wir werden seltener mehr in die Verlegenheit einer Verwechslung kommen. Im pathologischen Blute gibt es jedoch auch chromatinreiche Übergangskerne; dann wird die Scheidung immer mehr eine willkürliche.

Als alleiniges Einteilungsprinzip kann uns die Kernform ebenfalls nicht genügende Klarheit verschaffen; durch Verbindung mit der Eigenschaft des verschiedenen Chromatingehaltes gewinnt sie jedoch schon wesentlich an Prägnanz.

2. nach dem Verhalten des Protoplasmas:

Neben dem Kerne kommt nun das Protoplasma in Betracht, und auch dieses gibt uns sehr wesentliche und wichtige Einteilungsmöglichkeiten an die Hand, die um so tiefer greifen, als ihre Grundlagen offenbar mit der Funktion der Zelle im innigsten Zusammenhange stehen. Der Hauptcharakter des Zelleibes, der als Einteilungsgrund wirklich den größten Wert hat, ist das Vorhandensein oder Fehlen einer spezifischen Granulation. Die Erkenntnis von der hohen biologischen Bedeutung der Zellgranula verdanken wir ausschließlich Ehrlich, der in dezennienlanger Arbeit ihr Vorhandensein und ihre Artverschiedenheit festlegte und studierte und darauf hinwies, daß die Granulation als Sekretionsprodukt des Zellprotoplasmas mit der spezifischen Funktion dieses aufs innigste verknüpft sei.

a) ungranuliert oder granuliert,

Nach diesem Prinzipe hätten wir also die Leukozyten zunächst in ungranulierte und granulierte einzuteilen. Da ergibt sich aber auch gleich noch ein weiteres Teilungsbedürfnis. Wir haben im frischen Blutpräparate gesehen, daß bereits dort zweierlei Granula leicht zu unterscheiden sind: eine feinkörnige Granu-

b) weitere Teilung der granulierten: neutrophile, eosinophile, basophile Körnung.

lation von geringem Lichtbrechungsvermögen und eine grobkörnige Granulation. Die letztere können wir wieder in eine stark lichtbrechende und demnach glänzende, und in eine wenig lichtbrechende, also matte Granulation teilen. Viel geläufiger als diese Teilung nach den bloß optisch-physikalischen Eigenschaften im frischen Blute ist die mit ihr korrespondierende Einteilung nach der mikrochemischen Reaktion dieser Granula. Und da hat sich herausgestellt, daß die feinkörnige Granulation eine hohe Affinität zu „neutralen" Farbkörpern besitzt; wir bezeichnen sie sonach mit Ehrlich als „neutrophile (ε-) Granulation". Die hellglänzende grobkörnige Granulation zeigt hinwiederum eine hochgradige Affinität zu sauren Farbstoffen und wird sonach als „oxyphile" oder noch häufiger als „eosinophile (α-)" Körnung bezeichnet. Die matte grobkörnige Granulation der dritten Zellart endlich hat eine ganz enorme Affinität zu basischen Farbstoffen und wird sonach als „basophile (γ-)" Granulation bezeichnet; die Zellart selbst pflegt man nach Ehrlichs Vorgang als „Mastzellen" zu bezeichnen.

Dieser Einteilungsmodus kennzeichnet uns zwar die Beschaffenheit des Protoplasmas der gekörnten Zellarten ganz trefflich, gibt hingegen für die Unterscheidung der ungranulierten Zellen keine Handhabe, und schließlich reicht er auch für die granulierten Zellen insoferne nicht aus, als neben dem Protoplasma auch der Kern als unterscheidendes Merkmal in Betracht kommt.

Kombinierte Einteilung.

Daraus ergibt sich wohl die logische Folgerung, daß wir am besten tun werden, zu einer kombinierten Einteilung zu greifen. Und so wird tatsächlich ganz allgemein nach dem Vorgange Ehrlichs der Klassifikation der Leukozyten ein kombiniertes Einteilungsprinzip zugrunde gelegt, das neben der Granulierung des Protoplasmas auch die Kernform als unterscheidendes Merkmal heranzieht. Vorausschicken kann ich noch, daß im allgemeinen im normalen Blute die Einkernigkeit mit der Granulationslosigkeit und die Mehrkernigkeit mit Granulierung des Protoplasmas zusammenfällt. Für pathologische Verhältnisse hat jedoch dieser Satz keinerlei Gültigkeit.

Leukozytenarten des normalen Blutes.

Wir teilen also die Leukozyten des normalen Blutes in die folgenden fünf Arten ein:

1. Lymphozyten;

2. große einkernige (uninukleäre) Leukozyten und Übergangsformen;
3. polymorphkernige (multinukleäre) neutrophile Leukozyten;
4. polymorphkernige (multinukleäre) eosinophile Leukozyten;
5. Mastzellen.

Die Lymphozyten

stellen den einfachsten und kleinsten Zelltypus des kreisenden Blutes dar. Sie sind einkernige Elemente mit einem Durchmesser von 6—9 μ, ausgestattet mit einem großen, einfachen, scharf abgegrenzten und chromatinreichen Kerne und einem verhältnismäßig schmalen Saume eines ungranulierten und überwiegend basophilen Protoplasmas.

Es sind durchaus nicht alle Zellen dieses ersten Typus etwa vollkommen gleich, doch beruhen die Unterschiede meines Erachtens im wesentlichen auf einer Alterung der Zelle und geben keinen Anlaß, den Zelltypus in mehrere Unterarten zu zerlegen. Ich vermeide dies schon aus dem Grunde, um Ihnen nur ja keinen Anlaß zu Verwirrung zu geben, die sich in der Literatur gerade bezüglich des Namens Lymphozyt ohnehin schon in ganz unheilvollem Maße breitmacht.

Zellgröße

Zunächst sind von Haus aus nicht alle Zellen genau gleich groß; es gibt größere und kleinere, wie es größere und kleinere Menschen gibt. Die Größe an sich berechtigt uns noch nicht, irgend einen Schluß auf ihr Alter zu ziehen. Trotzdem aber sind auch die älteren Lymphozyten ohne Zweifel zumeist etwas größer als die jüngeren. Die Unterscheidung der von Haus aus etwas größeren und der durch Alterung größer gewordenen Lymphozyten können wir aber nur durch genaue Berücksichtigung der feineren Morphologie treffen. Es ist übrigens durchaus belanglos, ob die Zelle etwas größer oder kleiner ist; eine Scheidung der Lymphozyten des normalen Blutes in kleine, mittelgroße und große Lymphozyten ist etwas durchaus Gekünsteltes und Unberechtigtes und kann nur den einen Zweck haben, Verwirrung zu schaffen. Ich möchte doch sehen, wie ein nicht phantasierender Beobachter eine Grenze zwischen ihnen ziehen könnte! Je mehr Erfahrung Sie sammeln werden, desto mehr werden Sie von der Einheitlichkeit dieser Zellform überzeugt werden.

Täuschungen über die wirkliche Größe infolge Plattdrückung.

Gewiß ist in sehr vielen Fällen an der verschiedenen Größenbeurteilung der Lymphozyten nur eine Täuschung über die wahre

Größe schuld. Ich bin überzeugt, wenn ich Ihnen jetzt hier zwei Präparate desselben Blutes nebeneinander stelle, das eine dick und das andere dünn gestrichen, so werden alle die übereifrigen Hämatologen sofort erklären, in dem dünnen Präparate sei die Größe und in dem dicken Präparate die Kleinheit der Lymphozyten auffällig, die ersteren seien also große, die letzteren kleine Lymphozyten. Die Plattdrückung der Zellen in dünnen Strichpräparaten ist für den Ungeübten eine der häufigsten Fehlerquellen. Hüten Sie sich also vor übereilten Schlüssen, indem Sie immer bedenken, daß auch ein Lymphozyt, selbst wenn er nur 6 μ im Durchmesser hätte, in einem Präparate, das vor dem Abziehen 3—4 μ Dicke hatte, ungefähr eineinhalb- bis zweimal so groß erscheinen wird als ein Erythrozyt, weil der letztere, auf der Fläche liegend, nicht gequetscht wurde, während der kugelige Lymphozyt bereits ganz beträchtlich plattgedrückt ist. Sie können sich von der Größe der Unterschiede nicht besser überzeugen, als wenn Sie in einem und demselben Präparate dünne und dicke Stellen miteinander vergleichen.

Jüngere Lymphozyten: Die jüngeren Zellen geben im allgemeinen am klarsten den Typus wieder. Ich will also zuerst von ihnen sprechen.

a) Kern. Ihr Kern ist ziemlich chromatinreich, hält aber immerhin keinen Vergleich mit dem Normoblastenkerne aus. Er ist im allgemeinen ganzrandig und scharf abgegrenzt bei jeder Färbung, welche eine gute Abgrenzung überhaupt zuläßt. Seine Form ist nicht immer kreisrund, sondern häufig etwas länglich, hie und da ist auch eine flache Nierenform zu sehen oder gar eine durchaus regelmäßige winkelige Einziehung an dem einen Längsrande. Weitere Umgestaltungen des Kernes kommen im normalen Blute so gut wie gar nicht vor; unter pathologischen Verhältnissen allerdings — davon jedoch später. Bei günstiger Färbung, namentlich mit Triazid, gelingt es, in vielen Lymphozytenkernen zumeist in der Nähe des Randes irgendwo eine etwas hellere Lücke, ein Kernkörperchen, zu sehen. In Wirklichkeit haben alle Lymphozyten ein solches, doch sieht man es nicht immer, namentlich nicht bei starker Kernfärbung. Bei geeigneter Färbung zeigt der Kern auch stets eine feinbalkige Struktur seines Chromatingerüstes, doch tritt der oxyphile Kernsaft niemals so offen zutage wie im Kerne des Megaloblasten; das Gefüge des Lymphozytenkernes ist ein viel dichteres, daher sind alle Lücken durch unterliegende andere Chromatinteile so-

weit gedeckt, daß nirgends die reine saure Farbe des Kernsaftes sichtbar wird.

b) Protoplasma

Das Protoplasma bildet gerade bei den jüngeren Lymphozyten fast ausnahmslos nur einen schmalen und zarten Saum um den großen, weitaus die überwiegende Masse der Zelle ausmachenden Kern. Es trägt keine Granulation, ist jedoch auch nicht homogen, sondern zeigt eine netzartige Struktur, welche durch manchen Färbungsmodus, speziell mit Eosin-Methylenblau, öfters so deutlich hervorgehoben wird, daß man an feinste basophile Granula zu denken versucht sein könnte. Tatsächlich hatte auch ursprünglich Ehrlich die Meinung, daß es sich um Granula handle, er hat jedoch später diese Anschauung aufgegeben. Das Protoplasma ist überwiegend basophil, nimmt jedoch durchaus nicht alle basischen Farbstoffe in gleicher Weise auf; auch zu sauren Farbstoffen hat es eine allerdings recht geringe Verwandtschaft. Manchmal ist es am Rande nicht ganz scharf begrenzt, sondern etwas aufgelockert, selbst aufgefasert.

Ältere Lymphozyten.

Die Alterung der Zellen kennzeichnet sich durch die folgenden Veränderungen: Zunächst wird die Zelle im allgemeinen etwas größer, indem sowohl der Kern — dieser jedoch sehr wenig — als namentlich das Protoplasma zunimmt. Hiedurch wird das gegenseitige Verhältnis von Kern und Protoplasma zugunsten des letzteren oft recht beträchtlich verschoben. Der Kern liegt häufig exzentrisch, und auf der einen Seite finden wir dann namentlich bei plattgedrückten Zellen einen ziemlich breiten Protoplasmasaum. Solche Zellen sind in dünnen Präparaten nicht mehr viel kleiner als sonst ein polymorphkerniger Leukozyt, d. h. ihr Durchmesser scheint leicht doppelt so groß und selbst noch etwas größer zu sein als der eines Normozyten. Der Kern hat häufig an Färbbarkeit ein wenig eingebüßt, erscheint aber noch immer dunkelfärbig und stets scharf abgegrenzt, kurzum, er hat den früheren Typus bewahrt. Das Protoplasma ist im allgemeinen jetzt besonders schlecht färbbar. Nur in sehr gut gelungenen Präparaten nimmt es etwas Farbstoff auf, in minder gelungenen erscheint es vielfach ganz rein und geradezu aufdringlich farblos, weißer nämlich als das umgebende Blutplasma.

Azurophile Körnung.

In dem Zelleibe dieser älteren Formen findet man des öfteren bei Romanowsky-Färbung einige etwas verschieden große rotviolette körnige Einlagerungen; ob diese aber wirklich im Ehrlichschen Sinne als Granula bezeichnet werden dürfen

oder ob sie nicht vielmehr „azurophile" degenerative Einlagerungen bedeuten, mag dahingestellt bleiben. Ich neige mich sehr der letzterwähnten Meinung zu. Die Körnchen sind ganz verschieden an Größe und Zahl; manchmal sind nur drei bis vier, ein andermal, aber selten, zwanzig oder dreißig, vorhanden, einmal sind sie ganz klein, ein andermal sehr groß, ein drittes Mal liegen große und kleine nebeneinander. Solche ganz außerordentliche Verschiedenheiten, namentlich in bezug auf Zahl, kommen bei keiner „spezifischen" Granulation vor. Dazu kommt noch, daß diese Körnchen nicht konstante, sondern nur gelegentliche Bestandteile des Zelleibes sind, und daß es sonst morphologisch gleichwertige Lymphozyten sowohl mit als ohne derartige Körnchen nebeneinander in demselben Präparate gibt. Ein Übergang zu einer wirklichen Granulierung bekannter Art findet nicht statt.

Dies ist die Endstufe der Entwicklungsfähigkeit der Lymphozyten; in diesem Stadium verfallen sie dem physiologischen Abbau — ein Übergang in eine andere Zellart ist mit aller möglichen Sicherheit zu verneinen.

Färbung der Lymphozyten:

Die Färbung der Lymphozyten ist am klarsten und schönsten bei Anwendung von Hämatoxylin-Eosin oder Hämatoxylin-Pikrinsäure oder bei Romanowsky-Färbung. Weniger klar ist das Bild bei Anwendung von Methylenblau oder Eosin-Methylenblau, sehr blaß ist die Färbung durch Triazid.

a) bei Hämatoxylin-Eosin,

Bei Hämatoxylin-Eosinfärbung ist der Kern sehr dunkel blauviolett gefärbt und grenzt sich scharf ab, da das Protoplasma nur wenig Hämatoxylin, dafür aber wenigstens in den jüngeren Exemplaren bei gelungener Färbung immer auch deutlich Eosin aufgenommen hat. Das Protoplasma erscheint also mehr oder weniger deutlich graurötlich, manchmal fast rein rosafärbig. Die älteren Zellen zeigen nur bei besonders gut gelungener Färbung diesen Farbenton in ihrem Protoplasma. Oft ist dieses vielmehr ganz farblos oder es hat nur am Rande etwas Hämatoxylin aufgenommen. Auch der Kern erscheint in diesen Zellen etwas minder dunkelfärbig.

b) mit Hämatoxylin-Pikrinsäure,

Bei Nachfärbung mit Pikrinsäure sind die Verhältnisse ähnlich. Der Kern erscheint braunviolett, das Protoplasma, namentlich wenn man lange im Hämatoxylin vorgefärbt hat, deutlicher hämatoxylinfarben mit einem gelblichen Schimmer. Die alten Lymphozyten verhalten sich genau so wie bei Nachfärbung mit Eosin.

Sehr schön sind die Bilder, welche irgend eine der Methoden nach Romanowsky gibt, z. B. die Färbung nach Reuter. Der Kern ist beinahe noch dunkler purpurviolett als bei Hämatoxylinfärbung, sehr scharf abgegrenzt; das Protoplasma aber ist zart himmelblau. Auch die alten, schlecht färbbaren Formen haben hier zumeist noch einen bläulichen Schimmer im Protoplasma. c) nach Romanowsky,

Bei Methylenblaufärbungen wird das Bild dadurch getrübt, daß auch das Protoplasma der Lymphozyten zu diesem Farbstoffe eine große Affinität besitzt, welche manchmal sogar die des Kernes übertrifft. Hiedurch ist die Abgrenzung von Kern und Protoplasma in vielen Fällen eine minder scharfe und entspricht gar nicht recht unseren aus den übrigen Färbungen abgeleiteten Vorstellungen. Färben wir allein mit Methylenblau, so erscheint der Kern rein hellblau gefärbt, das Protoplasma zumeist in einem etwas dunkler blauen Tone, entweder deutlich blässer oder fast gleich stark oder sogar sichtlich stärker gefärbt als der Kern; dabei ist namentlich in den letzteren Fällen eine undeutliche körnig-netzige Struktur des Zelleibes erkennbar. d) mit Methylenblau,

Machen wir eine Doppelfärbung mit Eosin und Methylenblau nach irgend einer der früher angeführten Methoden, so färbt sich zunächst das Protoplasma mit Eosin. Aber es hat geringe Verwandtschaft zu diesem Farbstoffe, daher wird er ihm durch die nachfolgende Behandlung mit Methylenblau leicht wieder teilweise oder gar vollständig entzogen; nur wenn man sehr stark (zu stark) mit Eosin vorgefärbt hatte, kann auch jetzt der Eosinton der überwiegende bleiben. Sonst aber sieht man zumeist sehr schön, wie in das sauer vorgefärbte Protoplasma der gierig aufgenommene basische Farbstoff wie in feinen Äderchen eindringt, die Peripherie ganz erfüllt und vielleicht nur noch in der Nähe des Kernes Reste des sauren Farbstoffes erkennen läßt. Namentlich in solchen Bildern sieht das Protoplasma oftmals wie fein gekörnt aus, was aber eben nicht der Ausdruck einer spezifischen Granulation ist, sondern ein Bild der netzigen Struktur des Zelleibes und des ungleichmäßigen Eindringens des basischen Farbstoffes in denselben. Die älteren Lymphozyten nehmen in ihrem Protoplasma auch das Methylenblau zumeist nur sehr unvollkommen oder gar nicht mehr auf und gleichen also dann auch bei dieser Färbung den bei Anwendung der übrigen Methoden erhaltenen Bildern. e) mit Eosin-Methylenblau,

f) mit Triazid.

Bei Triazidfärbung sind, wie schon gesagt, die Lymphozyten zumeist sehr blaß gefärbt. Der Kern ist je nach der Fixation und der Reinheit des für die Herstellung des Farbstoffes verwendeten Methylgrüns entweder schön hellgrün und läßt dann meistenteils deutlich das Kernkörperchen erkennen, oder er ist etwas dunkler blaugrau bis blaugrün, meistens in unreinem Tone gefärbt. Er grenzt sich trotz seiner Blässe recht gut gegen das Protoplasma der Zelle ab, das bei gelungener Färbung ganz zart gelbrötlich oder gelbbräunlich gefärbt ist. Oftmals bleibt aber selbst das Protoplasma der jüngeren Lymphozyten ungefärbt. Die älteren Formen verhalten sich bei Triazid genau so wie bei den anderen Färbungen.

Verhalten bei mindergelungenen Färbungen.

Ich muß da noch eines betonen: Man darf nicht so ohneweiters immer das Farblosbleiben des Protoplasmas als Ausdruck der Zellalterung bezeichnen: Es kann sehr leicht die Folge einer minder gelungenen Färbung sein! Das wird man ja bald heraußen haben, da sich unter solchen Umständen fast alle Lymphozyten im Protoplasma schlecht färben, und regelmäßig auch andere Zellen, z. B. die großen einkernigen Leukozyten oder auch die Neutrophilen in ihrer Färbung Schaden gelitten haben. Die Ursache davon kann entweder in einer unkorrekten Fixation oder aber in der minderen Güte der Farbstoffe gelegen sein (z. B. stark extrahierendes Hämatoxylin, namentlich nach Delafield). Ein andermal kann man sich aber beim besten Willen keiner Schuld bezichtigen. Die Präparate selbst haben auch ihre Launen.

Normale Lymphozytenwerte.

Die Lymphozyten machen im normalen Blute etwa 20—25% der Gesamtleukozytenzahl aus. Ihre absolute Zahl beträgt sonach 1200 bis höchstens 2000 im Kubikmillimeter.

Die großen einkernigen Leukozyten Ehrlichs

stellen den zweiten im wesentlichen ungranulierten Zelltypus des normalen Blutes dar.

Verhältnis zu den Lymphozyten.

Ich stimme vollkommen mit Ehrlich darin überein, daß diese Gebilde im normalen Blute von den Lymphozyten scharf zu trennen sind. Der Umstand, daß minder erfahrene Beobachter die älteren, größeren und schlechter färbbaren Lymphozyten nicht ungern mit unseren Zellen verwechseln, kann doch kein genügender Grund sein, um sie gegen alle sonstigen Erfahrungen als zusammengehörig zu betrachten und anzunehmen,

daß die großen einkernigen Leukozyten direkt aus den Lymphozyten durch weiteres Wachstum hervorgehen. Es mag zugegeben werden, daß wirklich hie und da einmal, aber ganz ausnahmsweise und namentlich bei ungünstiger Färbung, auch ein Erfahrener die Unterscheidung nicht mit Sicherheit wird treffen können. Das ist aber auch schon das größte Zugeständnis, das ich den Unitariern machen kann.

Leider Gottes ist von manchen Seiten der Name „große Lymphozyten“ für diese Zellform gebraucht worden. Ich bitte Sie recht sehr, um der allgemeinen Verständlichkeit willen, gebrauchen Sie diesen viel mißbrauchten Namen für Zellen des normalen Blutes überhaupt nicht. Wenn ihn jemand gebraucht, muß man ihn immer erst wieder fragen, was er damit meint; und das ist doch meines Erachtens nicht eben der Zweck der Namengebung.

Zelltypus.

Die großen einkernigen Leukozyten gehören zu den größten Zellformen des normalen menschlichen Blutes; sie messen zumeist etwa 12—15 μ und übertreffen somit gewöhnlich die polymorphkernigen Neutrophilen ein wenig an Durchmesser. Sie sind gekennzeichnet durch einen großen, einfachen, aber wenig scharf abgegrenzten und ausgesprochen chromatinarmen Kern und durch ein ebenfalls ziemlich breites, übrigens wechselnd großes, schwach basophiles, ungranuliertes Protoplasma.

Verhalten des Kernes.

Das wesentliche Kennzeichen dieser Elemente gegenüber den Lymphozyten und allen übrigen Leukozytenarten des normalen Blutes ist im Verhalten des Kernes gelegen. Er ist plump und blaß. Sein Chromatin zeigt eine feine Struktur, oxychromatische Substanz tritt nicht hervor. Der Umriß ist oft kein durchaus regelmäßiger, sondern er erscheint ein wenig abgeplattet oder gebuchtet, die Abgrenzung ist nur bei sehr starker Kernfärbung (z. B. nach Reuter) eine verhältnismäßig gute, sonst aber unscharf. Kernkörperchen lassen sich auch bei Triazidfärbung nicht oder doch nur sehr selten nachweisen. Das Protoplasma ist schwächer basophil als jenes der Lymphozyten, zeigt aber im übrigen ein analoges Verhalten.

„Übergangsformen.“

Diese Zellen machen zunächst durchaus nicht den Eindruck des Greisenhaften, wie es sein müßte, wenn sie aus den alten Lymphozyten hervorgingen, wohl aber durchaus den Eindruck des mangelhaft Differenzierten. Sie haben die Fähigkeit, sich im strömenden Blute in eine gelapptkernige Zellform umzuwandeln,

welche sich von den typischen Exemplaren zunächst nur die durch unterscheidet, daß eben der Kern eine mehr oder minder tiefe Einkerbung bekommt, oder daß er plump gewunden erscheint. Alle anderen wesentlichen Charaktere des Kernes bleiben unter allen Umständen erhalten: er ist plump und gleich chromatinarm wie früher, und daran kann man eine Zelle dieser Art selbst mit vorgeschrittener Kernlappung jederzeit erkennen und von jeder anderen Zellform des normalen Blutes trennen. Auch das Protoplasma erfährt im Verlaufe dieser Umwandlung öfters eine merkliche Veränderung: es treten nämlich in ihm feinste Stäubchen auf, welche zweifellos als die ersten Anfänge einer feinkörnigen Granulation gedeutet werden müssen; ihrer mikrochemischen Reaktion nach nähert sich diese Granulation am meisten der neutrophilen, ist aber durch ein wesentliches Überwiegen der basophilen Komponente von der reifen neutrophilen Körnung verschieden. Ich bemerke übrigens, daß diese granuläre Differenzierung des Protoplasmas manchmal schon andeutungsweise zu sehen ist, ehedenn der Kern in Lappung übergegangen ist; dann zeigt ausnahmsweise auch einmal ein typischer großer einkerniger Leukozyt eine Andeutung von feinkörniger Granulation. Diese Andeutung von Granulation ist nur bei sehr gut gelungener Triazidfärbung und nur manchmal, und dann sehr unklar, auch bei Methylenblaufärbung zu sehen; sie erreicht niemals auch nur annähernd jenen Grad von Deutlichkeit und Schärfe, welcher die Granula der neutrophilen Zellen kennzeichnet.

Diese Produkte der weiteren Entwicklung der großen einkernigen Leukozyten werden allgemein als „Übergangsformen“ bezeichnet.

Bedeutung der „Übergangsformen“.

Der Name ist meines Dafürhaltens nicht glücklich gewählt. Er rührt daher, daß auch Ehrlich annahm, die Zellen seien wirklich eine vermittelnde Umwandlungsstufe zwischen großen einkernigen Leukozyten und polymorphkernigen Neutrophilen. Ich kann diese Meinung jedoch nicht teilen. Meine Überzeugung geht dahin, daß aus einer Übergangsform niemals ein ordentlicher neutrophiler Leukozyt wird, sondern daß die Übergangsform das Endstadium der Entwicklung des großen einkernigen Leukozyten darstellt und als solche zugrunde geht.

Es hat gar keinen Zweck, diese „Übergangsformen“ etwa als gesonderte Zellform zu führen und zu rubrizieren: Ihre Zusammengehörigkeit mit den großen einkernigen Leukozyten ist

so in die Augen springend, daß man den Tatsachen Gewalt antun müßte, um sie voneinander zu trennen. Ich zähle beide Zellarten, wenn ich es überhaupt tue, immer gemeinsam, zumal ich die Meinung habe, daß gewiß manche großen einkernigen Leukozyten bereits als Übergangsform in die Zirkulation gelangen. Das gegenseitige Verhältnis von großen einkernigen Leukozyten und Übergangsformen wechselt nämlich ganz außerordentlich, und es gibt Fälle, bei denen fast nur Übergangsformen zu sehen sind.

Normalzahl der großen mononukleären Leukozyten im Blute.

Beide Zellarten zusammen machen im Mittel ungefähr 3 bis 5% der Gesamtleukozytenzahl aus; ihre absolute Zahl beträgt also etwa 200—400 im Kubikmillimeter.

Verhalten bei Färbungen.

Über die färberischen Eigenschaften unserer Zellen habe ich wenig zu sagen. Kern und Protoplasma färben sich schlechter, aber sonst in dem gleichen Sinne wie die entsprechenden Zellteile der Lymphozyten. Am klarsten sind auch hier die Bilder bei Reuter, beziehungsweise Romanowsky, und bei Hämatoxylin-Eosin. Bei Eosin-Methylenblaufärbungen ist es manchmal nur bei der größten Aufmerksamkeit möglich, den Kern vom Protoplasma zu unterscheiden, da beide in gleich geringem Grade Methylenblau aufgenommen haben.

Mit Triazid gelingt die Färbung des Protoplasmas noch seltener gut als wie bei den Lymphozyten; es muß die Fixation ganz besonders gelungen sein, wenn der Zelleib ein etwa gelbbräunliches Kolorit geringster Stärke annehmen soll; dann kann man zumeist auch die zarte Andeutung einer bräunlichen Granulation wahrnehmen. Bei Romanowsky-Färbung sieht man auch in ihrem Zelleibe gelegentlich einige gröbere azurfarbene Körnchen.

Die polymorphkernigen (multinukleären) neutrophilen Leukozyten

sind die herrschende und am schärfsten charakterisierte Zellart des menschlichen Blutes. Sie haben einen mittleren Durchmesser von 10—12 μ, besitzen einen schlanken chromatinreichen und äußerst vielgestaltigen Kern und ein ziemlich großes Protoplasma ohne ausgesprochene Farbenaffinität, aber vollkommen erfüllt von einer feinkörnigen, wenig lichtbrechenden Granulation, welche sich vorwiegend im Mischtone der neutralen Farbenverbindungen anfärbt.

In nicht plattgedrücktem Zustande erscheint der Durchmesser der neutrophilen Zellen ungefähr eineinhalbmal so groß wie der Erythrozytendurchmesser; die Zellen sind also nicht gerade groß, übertreffen manchmal nur verhältnismäßig wenig die größeren Exemplare der Lymphozyten und sind regelmäßig kleiner als die großen einkernigen Leukozyten. Zunächst weicht ihre Kernform von der aller bisher besprochenen Zellen ganz außerordentlich ab. Der Kern ist sehr reich an Chromatin, zumeist sogar bei Hämatoxylin-Eosinfärbung dunkler als der Lymphozytenkern; er läßt regelmäßig bei halbwegs brauchbarer Färbung eine deutliche Struktur erkennen. Das Wichtigste ist aber seine Form. Vielgestaltig ist noch ein schwacher Ausdruck für den unermeßlichen Wechsel der Kerngestalten, die doch immer wieder denselben unverkennbaren Charakter zeigen. Der Kern ist also zunächst seiner Form nach schlank, zumeist mehrfach gekrümmt oder gewunden. Dabei kann ein Teil des Kernes auch einmal eine etwas plumpere Gestalt annehmen, andere Teile aber können wieder so stark verjüngt sein, daß sie nur bei sehr guter Kernfärbung (Hämatoxylin) als ganz zarte Verbindungsfäden zwischen den scheinbaren „Fragmenten" sichtbar werden, und auch das öfters nur bei verschiedener Einstellung der Mikrometerschraube, da die verbindende Schleife in einer anderen Ebene liegen kann als die Hauptmasse des Kernes. Solange die Zellen nicht plattgedrückt sind, ist der Kern zu einem Knäuel zusammengerollt und man kann die Details seiner Beschaffenheit minder gut studieren; durch einen geeigneten Grad der Quetschung erst werden seine einzelnen Teile nebeneinander säuberlich ausgebreitet, und dann sind die Kernfiguren am zierlichsten. Zu starker Druck kann natürlich eine Zersprengung der Zelle und auch ohne diese schon eine Veränderung der ursprünglichen Kernfigur zur Folge haben.

Kernform.

Es kommt gewiß nicht selten vor, daß die zarten verbindenden Chromatinbrücken zwischen den einzelnen Hauptanteilen des Kernes bei der Wanderung im strömenden Blute zerreißen, und daß dann wirklich zwar nicht mehrere Kerne, aber mehrere Kernfragmente in der Zelle vorhanden sind; für diese Bildungen allein ließe sich noch halbwegs die viel gebrauchte Benennung „polynukleär" oder weniger barbarisch „multinukleär" rechtfertigen.

Protoplasma und Körnung.

Das Protoplasma der Zelle selbst hat fast gar keine Affinität zu Farbstoffen; am ehesten nimmt es anscheinend noch eine

Spur von saurem Farbstoff auf. Man sieht aber auch für gewöhnlich kaum etwas von dem Protoplasma, da der ganze Zelleib vollkommen erfüllt ist mit der spezifischen feinkörnigen Granulation. Ich habe der bereits bei Besprechung des Nativpräparates und gerade oben gegebenen Beschreibung nichts Wesentliches mehr beizufügen. Bemerken möchte ich nur, daß auch beim durchaus gesunden Menschen die neutrophilen Granula nicht immer vollkommen gleich groß und gleich lichtbrechend erscheinen, was sowohl im Nativpräparate wie auch im gefärbten Trockenpräparate hervortritt; besonders feine, stäubchenartige Granula kommen allerdings unter normalen Verhältnissen kaum zur Beobachtung.

Auch die neutrophilen Zellen altern und gehen als solche zugrunde, ohne daß man hier von wohlcharakterisierten Alterungserscheinungen sprechen könnte. Am ehesten ist wohl zu bemerken, daß der Kern etwas matter färbbar erscheint. Solche Zellen werden wohl auch leichter als die lebensfrischen der Zerreißung bei der Präparation verfallen. Zerrissene Zellen, welche überflüssigerweise auch als „neutrophile Schatten" bezeichnet werden, findet man tatsächlich hie und da, im normalen Blute aber fast nur an dünnen Stellen, im pathologischen viel eher und häufiger. Alterung. Zerreißung

Von größter Wichtigkeit ist nun das Verhalten der neutrophilen Zellen gegenüber den verschiedenen Färbemethoden, da es sich wegen der Veränderungen, welche die Granula unter der Einwirkung verschiedener Färbeverfahren erleiden, recht verschieden gestaltet. Verhalten bei Färbungen:

Zunächst muß ich da eine allgemeine Bemerkung vorausschicken. 1. Allgemeines:

Die feinkörnigen Granula der Leukozyten des menschlichen Blutes werden seit Ehrlich als neutrophil bezeichnet, weil sie sich am schönsten und klarsten mit Farbengemischen darstellen lassen, welche einen oder mehrere neutrale Farbkörper enthalten, und weil sie sich dann in einem dem Farbentone dieser Substanzen entsprechenden Tone anfärben. In welcher Weise die Bindung neutraler Farbstoffe durch die neutrophilen Substanzen der Gewebe erfolgt, wissen selbst die zünftigen Farbenchemiker nicht. Jedenfalls liegen aber die Verhältnisse weder was die Farbstoffverbindungen, noch was die Gewebselemente betrifft, so klar wie mit einfachen chemischen Verbindungen. Man wird zu-

nächst damit rechnen müssen, daß z. B. im Triazid, welches die Verbindungen zweier Farbsäuren mit einer Farbbase enthält, nicht nur die triaziden neutralen, sondern auch die di- und monaziden Verbindungen in Betracht kommen, sei es, daß sie präformiert schon in der Lösung vorhanden sind, sei es, daß sie unter der Einwirkung der Gewebe entstehen. Dasselbe nimmt Pappenheim für die Eosin-Methylenblauverbindung an, bei welcher ebenfalls eine ganze Reihe von Bindungsmöglichkeiten mit Verschiedenheit der freien Haptophore gegeben ist. Auf der anderen Seite unterliegt es keinem Zweifel, daß die sogenannten neutrophilen Substanzen nicht nur zu neutralen Farbstoffen Affinitäten besitzen, sondern daß sie bei einfach saurer oder basischer Färbung imstande sind, auch den einen oder anderen dieser Farbstoffe zu binden. Und dieses Bindungsvermögen wird vielleicht nicht einmal bei allen anscheinend gleichartigen Substanzen das gleiche sein müssen und bei denselben Substanzen unter verschiedenen Umständen sich ändern können.

Verhalten der Granula in reifen und unreifen Zellen.

Gerade in dieser Hinsicht sind die neutrophilen Granula der Leukozyten von hohem Interesse. Es ist bereits von Ehrlich hervorgehoben worden, und ich glaube, es kann keinem nur halbwegs aufmerksamen Beobachter entgehen, daß diese Granula durchaus nicht in jedem „Alter" und nicht unter allen Umständen das gleiche Verhalten zeigen. Es muß doch jeder halbwegs Sehende sehen, daß sich die neutrophilen Granula der normalen polymorphkernigen Leukozyten bei Färbung mit Eosin rot färben, und nicht nur das, sondern auch, daß sie sich bei Verwendung eines Eosin-Methylenblaugemisches durchaus nicht immer violett, sondern häufig auch jetzt rein rot färben. Es müssen also diese Granula zum mindesten einige acidophile Haptophore besitzen, und es macht nach den eben wiedergegebenen Erfahrungen den Eindruck, daß die reifen Granula unserer normalen neutrophilen Zellen ein Überwiegen der sauren Komponente haben, welche gelegentlich bei der Färbung ausschließlich zur Geltung kommt. Im Gegensatze hiezu ist es ohneweiters festzustellen, daß die unreifen neutrophilen Zellen, welche allerdings unter normalen Verhältnissen nicht ins Blut gelangen, ein gegensätzliches Verhalten ihrer Granula zeigen. Jeder, der einmal ein Präparat myeloider Leukämie mit Eosin-Methylenblau gefärbt hat, muß wissen, daß sich die Granula der neutrophilen Myelozyten färberisch ganz ver-

schieden verhalten. Die einen sind beinahe so vorwiegend rot wie die reifen Granula, die anderen aber sind mehr oder minder vorwiegend oder rein blau gefärbt. Sie haben also ohne Zweifel eine stärkere basophile Komponente. Besonders schön konnte ich diese Unterschiede auch in Reuter-Präparaten von Malariablut beobachten: Während die polymorphkernigen Leukozyten nur eine sehr schwache, oft kaum angedeutete rötliche Granulation zeigten, fand ich in den in spärlicher Zahl ebenfalls vorhandenen neutrophilen Myelozyten eine ganz außerordentlich intensiv gefärbte, tief violette Granulation. Es ist auch hervorgehoben worden und leicht festzustellen, daß man durch besonders starke Hitzefixation viele neutrophile Granula stärker empfänglich für basische Farbstoffe zu machen vermag, und daß hie und da, namentlich bei Leukozytosen, auch ohne solche Überhitzung einzelne Granula diese Eigenschaft besitzen.

Einheitlichkeit der feinkörnigen Granulation;

Das sind, wie gesagt, Dinge, die einem kaum entgehen können und die ich seit vielen Jahren kenne. Aber das kann doch um Gottes willen kein Grund sein, die feinkörnige Leukozytengranulation, die gewiß etwas durchaus Einheitliches ist, in verschieden benamste Granulationen aufzulösen, wie es unbegreiflicherweise neuerdings wieder versucht wird. Wir haben doch keine starre chemische Verbindung vor uns, sondern ein Ding, das lebt, und dem man doch auch das Recht zugestehen muß, eine Lebenstätigkeit zu entfalten und zu äußern. Daß sie sich uns gerade in verschiedener Färbbarkeit äußert, ist unsere Schuld, weil wir ihr anders nicht beikönnen. Wir werden auf genau analoge aber noch viel auffallendere Dinge später wiederum bei allen anderen Granulationen stoßen.

2. Spezielle Färbung der neutrophilen Granulation:

Nun kehre ich zu dem Verhalten der reifen neutrophilen Granula unserer polymorphkernigen Zellen gegenüber den verschiedenen Färbeverfahren zurück.

a) mit Triazid,

Am typischesten und klarsten sind die neutrophilen Granula unter allen Umständen mit Hilfe der Triazidfärbung nach Ehrlich darzustellen. In einem gut fixierten Präparate sind sie dann satt rotviolett gefärbt und heben sich durch die Stärke dieser Färbung außerordentlich gut von dem orangefarbenen Grundtone, der durch die Erythrozyten gebildet wird, ab; ein in allen Punkten gut gelungenes Triazidpräparat gehört gerade wegen der unübertrefflich klaren Färbung dieser feinsten Körnchen zu den schönsten mikroskopischen Bildern. Die Unterschiede

in der Größe und in der Färbbarkeit der einzelnen Granula treten nur unter solchen Umständen einwandfrei hervor. Der Kern erscheint entweder hellgrün mit schwacher Andeutung seiner Struktur, oder aber er ist schmutzig-blaugrün und dann etwas stärker gefärbt, das letztere namentlich dann, wenn das zur Farbstoffmischung verwendete Methylgrün von minderer Reinheit war. Unter solchen Umständen entstehen auch recht leicht am Rande des Kernes oder auf seiner Oberfläche verschieden große rundliche oder unregelmäßig begrenzte schwärzliche Niederschläge; vor der Verwechslung mit Granulationen schützt die Verschiedenheit in Größe und Form dieser Gebilde. Übrigens ist ihr Auftreten zu einem guten Teile abhängig von einer minder gelungenen, meistenteils etwas zu niedrigen Fixation. Unter dieser leiden überhaupt die Präparate und speziell die neutrophilen Zellen am meisten. Ist die Fixation gar zu niedrig, so erscheinen die Erythrozyten ziemlich dunkelrot gefärbt, und die ebenfalls mehr rötlich gefärbten Granula treten wenig hervor, sie sind auch wirklich zumeist etwas minder gut gefärbt als bei gerade richtiger Erhitzung. Ein nur ganz geringes Zuwenig in der Fixation läßt zwar die Erythrozyten schon bräunlichgelb erscheinen, doch sind hier zumeist die neutrophilen Granula nur ganz mangelhaft gefärbt, und die eben erwähnten schwärzlichen Niederschläge des Kernfarbstoffes machen sich gerne störend bemerkbar; bei zu hoher Fixation, also Überhitzung wiederum erscheinen die Erythrozyten unangenehm hellgelb und treten sehr wenig plastisch hervor, so daß es z. B. sehr schwer wird, sich über ihren Farbstoffgehalt zu äußern; die Kerne sind sehr matt, aber fast immer rein grün gefärbt, die neutrophilen Granula erscheinen mehr rötlich und ebenfalls undeutlicher als bei guter Erhitzung. Wenig distinkte Bilder der Granulation sieht man auch gewöhnlich bei Alkohol- oder Methylalkoholfixation; ich habe bei dieser Vorbehandlung nur selten ein wirklich schönes Präparat gesehen. Immerhin aber sind die Granula durchwegs erkennbar; wenn es also auf rasches Arbeiten ankommt, kann man sich wohl zur Orientierung mit einem derart hergestellten Präparate begnügen.

b) mit Eosin-Methylenblau,

Wesentlich mehr Verschiedenheiten zeigt das Verhalten der neutrophilen Granulation bei Eosin-Methylenblaufärbung. Es kommt da vor allem auf die Wahl der speziellen Methode an, und selbst bei der gleichen Methodik ändert sich

das Bild noch immer innerhalb gewisser Grenzen. Ich habe schon oben einmal hervorgehoben, daß gerade die mangelhafte und ganz inkonstante Färbung der neutrophilen Granulation der Grund ist, aus welchem wir uns immer wieder bestreben, die zweizeitige Färbung mit den einzelnen Farbstofflösungen, die sonst ganz prächtige Bilder liefert, durch Färbung mit einem Gemische beider oder aber mit der Eosin-Methylenblau v e r b i n d u n g, welche aus dem kristallisierten Niederschlage solcher Gemische gewonnen wird, zu ersetzen. Ich glaube, daß diese Andeutung genügen wird, um Sie an das damals Erörterte zu erinnern.

Wenn ich ein Trockenpräparat zunächst mit Eosin vorfärbe, so nehmen die neutrophilen Granula in lockerer Bindung das Eosin auf, und es ist meistenteils unberechenbar, ob sie es bei der nachfolgenden Behandlung mit Methylenblau vollkommen oder teilweise oder gar nicht behalten werden. Je nachdem dies der Fall ist, sieht man also den Protoplasmaleib unserer Zellen entweder zart rötlich granuliert oder mehr diffus rötlich gefärbt, und erst bei genauester Einstellung kann man dann wahrnehmen, daß er in Wirklichkeit doch granuliert ist; oder es hat, und das ist bei starker Methylenblaunachfärbung am häufigsten der Fall, das Protoplasma der Zellen überhaupt keinen Farbstoff behalten. Dieses wechselnde Aussehen des Zelleibes hat für den Ungeübten etwas arg Verwirrendes und führt ihn leicht zu falschen Schlüssen.

Wo es sich um Darstellung der Leukozytenverhältnisse handelt, sind also unbedingt j e n e Eosin-Methylenblaumethoden vorzuziehen, welche konstantere Bilder mit mehr oder weniger gut erhaltener roter oder rotvioletter Färbung der neutrophilen Granula geben, insbesondere die Methoden v. M ü l l e r n s oder J e n n e r s, beziehungsweise M a y - G r ü n w a l d s.

Die verschiedenen Arten der Färbung nach R o m a n o w s k y geben auch ein sehr wechselndes Bild der neutrophilen Granulation; sie sind vorläufig nicht verläßlich genug, um zur Darstellung unserer Körnung empfohlen zu werden. Selbst bei gleicher Methodik wechselt die Färbung sehr bedeutend. Manchmal sieht man die Granula überhaupt gar nicht und das Protoplasma ist einfach zart rosafarben, oder man sieht in solchem Protoplasma spurweise die etwas stärker rötliche Granulation, oder endlich man sieht deutlich eine rotviolette Granulierung. Alle diese Abstufungen kann ich z. B. an meinen R e u t e r - Präparaten beobachten, ohne daß es mir gelungen wäre, eine Konstanz zu c) nach Romanowsky.

erzielen. Etwas gleichmäßigere Resultate scheint das Verfahren nach Romanowsky-Ziemann zu geben.

d) mit Hämatoxylin-Eosin.

Sehr bemerkenswert ist wiederum das Verhalten der neutrophilen Zellen bei Hämatoxylindoppelfärbungen. Die Zellen sind sehr gut charakterisiert und in jedem nicht ganz mißlungenen Präparate spielend leicht zu erkennen, aber — ihre Granula sind nicht gefärbt. Das Protoplasma erscheint vielmehr offenbar infolge von Diffusion der Granulationssubstanz durchaus gleichmäßig rot gefärbt in sehr verschiedener Stärke und Nuance, während der Kern durch seine leuchtende, äußerst dunkel blauviolette Hämatoxylinfarbe mit einer Schärfe hervorsticht, wie sonst nie, und das ganze Zellbild fast allein charakterisiert. Bei ungünstiger Färbung, insbesondere bei zweitstelliger Anwendung eines „stark extrahierenden" Hämatoxylin Delafield ist auch hier manchmal der rote Farbstoff dem Zelleibe mehr oder minder vollständig entzogen, und das Zellbild verliert dadurch seine Prägnanz.

e) mit Hämatoxylin-Pikrinsäure.

Färbt man durch längere Zeit mit Delafieldschem Hämatoxylin vor und dann anstatt des Eosins mit Pikrinsäure nach, so hat der Zelleib der Neutrophilen eine Spur von Hämatoxylin und ebenso eine geringe Menge Pikrinsäure diffus und gleichmäßig aufgenommen.

Normalzahl der Neutrophilen.

Die polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten beherrschen, wie schon gesagt, durchaus das normale Leukozytenbild des menschlichen Blutes; sie machen im Mittel etwa 70% der Gesamtleukozytenzahl aus, mit Schwankungen zwischen 65 und 75%. Ihre absolute Zahl beträgt sonach etwa 4500—5500, im Mittel 5000 im Kubikmillimeter.

Sind die neutrophilen Leukozyten das herrschende, so stellen

die polymorphkernigen eosinophilen Leukozyten

das „schöne" Leukozytengeschlecht im menschlichen Blute vor. Sie sind polymorphkernige Zellen mit einer grobkörnigen und annähernd gleichmäßig großen, stark lichtbrechenden oxyphilen Granulation.

Zellgröße.

Im einzelnen sind folgende Eigenschaften hervorzuheben. Ihre Größe ist häufig, aber nicht immer, etwas beträchtlicher als jene der Neutrophilen, etwa 12—15 μ. Der Kern ist oft,

Kern.

aber auch nicht immer, etwas weniger chromatinreich und etwas weniger schlank. Diese beiden Punkte kommen jedoch differentialdiagnostisch gar nicht in Betracht, denn die Zellen sind durch die Eigenart ihrer Granulation so scharf gekennzeichnet, daß sie jeder, der sie einmal ordentlich gesehen hat, wieder erkennen sollte. Die Größe der Granula wechselt ein wenig, ebenso hie und da auch ihre Form, indem sie nicht immer streng rund wie gewöhnlich, sondern manchmal auch etwas länglich erscheinen. Außer der Größe kennzeichnet sie zunächst ihr hoher Glanz, der bei verschiedener Einstellung der Mikrometerschraube hervortritt, allerdings am besten bei wohlgelungener Eosinfärbung, während er bei Triazid- und Romanowsky-Färbungen mehr zurücktritt. Das dritte und ausschlaggebende Moment ist schließlich ihre hochentwickelte, konstante und — im reifen Zustande — ausschließliche Oxyphilie. Körnung

Ihr färberisches Verhalten gestaltet sich wie folgt: Bei allen Eosin-Methylenblaufärbungen und bei der Hämatoxylin-Eosinfärbung sind die Granula leuchtend und glänzend rot gefärbt, indessen der Kern den blauen oder violetten Ton des basischen Färbemittels zeigt. Nur bei Anwendung eines „stark extrahierenden" Hämatoxylin Delafield zur Nachfärbung leidet manchmal schon unter normalen Verhältnissen, noch mehr unter pathologischen, ihre Eosinfärbung, indem ihnen zwar nicht das ganze, aber ein großer Teil des Eosins durch das nachfolgende Hämatoxylin entzogen wird. Dann erscheinen sie blaßrot und matt, und man muß erst durch scharfe Einstellung ihre besondere Größe sicherstellen, um die Diagnose machen zu können. In dieser unangenehmen Weise kommt die Hämatoxylinwirkung aber nur selten einmal bei einem weniger gelungenen Farbstofffläschchen zum Vorschein. Bei Hämatoxylin-Pikrinsäurefärbung erscheinen die Granula matt glänzend und gelb, bei Romanowsky-Färbungen sind sie gewöhnlich ebenfalls ziemlich matt rot gefärbt, glänzen weniger und treten daher weniger schön hervor als bei der gewöhnlichen Eosin-Methylenblaufärbung; zu erkennen sind sie aber immer. Verhalten bei Färbungen.

Ehrlichs Triazid färbt die eosinophilen Granula immer erkennbar, manchmal recht schön, aber sehr wechselnd, je nach Fixation und Farbstoffgüte. Vor allem ist die Fixation auch hier wieder von entscheidendem Einfluß. Je stärker erhitzt wurde, desto reiner orangegelb erscheinen die eosinophilen Granula, je

weniger fixiert wurde, desto mehr kupferrot ist ihr Ton. Der Farbenunterschied gegenüber den rotvioletten neutrophilen Körnchen ist im letzteren Falle kein so besonders auffallender mehr, obwohl ihn jedes empfindliche Auge sofort wahrnimmt; auch der Glanz der Granula ist minder ausgesprochen als bei der spezifischen Eosinfärbung. Beide jetzt erwähnten Eigenschaften aber (Farbenton und leichter Glanz), speziell noch im Zusammenhalte mit der Größe der Granulation, ermöglichen in jedem Falle und auch bei ungünstiger Fixation dennoch ganz leicht die Diagnose. Bemerken möchte ich nur noch, daß speziell bei starker Hitzefixation der Umstand besonders deutlich zum Vorschein kommt, daß die gefärbte Substanz der Granula eigentlich Ringform hat, indem eine dunkle Randzone die hellere Mitte umgibt.

Normalzahl der Eosinophilen im Blute.

Die Prozentzahl der Eosinophilen im normalen Blute wechselt recht bedeutend und beträgt im Mittel etwa 2—3% mit Schwankungen zwischen $^1/_2$ und mehr als 4%. Die absolute Zahl mag sonach im Mittel 100—200 im Kubikmillimeter betragen.

Die letzte und seltenste Zellart des normalen Blutes sind

die Mastzellen

(polymorphkernige, basophil granulierte Leukozyten).

Normalzahl.

Sie machen höchstens $^1/_2$% der Gesamtleukozytenzahl aus, zählen also 0—50 im Kubikmillimeter.

Sie sind zumeist etwas kleiner als die Neutrophilen, tragen einen ziemlich chromatinarmen, öfter etwas plumpen polymorphen Kern und ein mit wechselnd großen, aber stets grobkörnigen Granulationen ungleichmäßig und verschieden dicht besetztes, an sich fast unfärbbares Protoplasma.

Zellgröße.

Ihre Größe mag im Mittel etwa 10 μ betragen; sie stehen also in der Mitte zwischen Lymphozyten und Neutrophilen, können aber auch ebenso groß werden wie die letzteren. Entsprechend ihrer geringeren Größe sind sie in den Trockenpräparaten zumeist weniger plattgedrückt als die anderen polymorphkernigen Zellen, ihre Kleinheit fällt also dann noch mehr ins Auge, als den wirklichen Maßen entspricht. Zugleich ist infolgedessen der Kern nicht entknäuelt, wie zumeist jener der anderen granulierten Elemente, und auch dieses kleine Zeichen trägt viel zur Charakte-

Kern.

ristik des Zellhabitus bei. Es fehlt natürlich bei größeren Mastzellen und in besonders dünnen Präparaten auch bei den kleineren; ist der Kern ausgebreitet, dann unterscheidet er sich, abgesehen von dem etwas geringeren Chromatingehalte, kaum von jenem der Neutrophilen.

Granulation: Die Granulation ist unter allen Umständen grobkörnig, wechselt aber sowohl in verschiedenen, wie auch in der gleichen Zelle beträchtlich in ihrer Größe. Es gibt Mastzellen mit durchaus ziemlich kleinen Granulis, daneben solche mit lauter größeren Formen, und namentlich häufig trägt die gleiche Zelle verschieden große Granula. Im Mittel ist die Granulation ebenso groß wie jene der eosinophilen Zellen. Ein kardinaler Unterschied ist aber der, daß die Mastzellenkörnung im ungefärbten Zustande nicht glänzt, weil sie das Licht nicht wesentlich anders bricht als die umgebenden Medien. Das ist der Grund, aus welchem man diese Zellart im frischen Blutpräparate fast nie erkennt, und aus welchem eine Verwechslung der Eosinophilen mit ihnen völlig ausgeschlossen ist.

a) Metachromasie. Die Granulation ist rein und stark basophil und hat die besondere Eigenschaft, sich mit geeigneten Anilinfarben in leuchtendem metachromatischem Farbentone zu färben, mit violetten Farben rot, mit blauen aber violett. Es beruht das vielleicht auf einer chemischen Einwirkung auf die Farbstoffe, wobei irgend welche in ihrer Färbung von dem ursprünglichen Farbentone abweichende Derivate gebildet werden. Mit vollkommen reinem Methylenblau z. B. färben sie sich blau; sowie der Farbstoff aber Spuren von Azur enthält, tritt bereits die Metachromasie zutage, bei polychromem Methylenblau schlägt die Färbung völlig in leuchtendes Rot um.

b) Löslichkeitsverhältnisse. Die für histologische Untersuchungen speziell im Blutpräparate weiterhin bemerkenswerteste Eigenschaft unserer Granulation ist aber ihre ungemein leichte Löslichkeit in Wasser, in wässerigen Flüssigkeiten und in sauren Farbstofflösungen.

Es ist merkwürdig, daß man von dieser Eigenschaft ja schon längst eine Ahnung hatte, aber sich der praktischen Konsequenzen nicht vollkommen bewußt wurde. Schuld mag daran tragen, daß die meisten Autoren Mastzellen im Gewebsschnitte untersuchten, wo die Verhältnisse mit Rücksicht auf die Einbettung in ein

solides Gewebe, die chemische Vorbehandlung usw. ganz anders liegen als in dem einfach erhitzten Trockenpräparate.

Kunstprodukte aus der Mastzellenkörnung: a) in Gewebsschnitten,

Aber auch im Schnitte machen sich Auflösungserscheinungen gewiß nicht so selten geltend. Meines Dafürhaltens sind die von Unna, Ehrlich, Prus u. a. beschriebenen Höfe um die Mastzellen, welche Unna als ein den Mastzellen eigentümliches Spongioplasma auffaßte, während Ehrlich in ihnen eine Art von Sekretion der Granulationssubstanz in die Umgebung sieht, nichts anderes als Produkte einer teilweisen Auflösung der Granula und der Diffusion ihrer gelösten Substanz in die Umgebung. Ehrlich weiß, daß man solche Dinge auch künstlich darstellen könne, faßt aber trotzdem die Höfe als präformiert auf.

b) in Blutpräparaten.

Es ist weiters bemerkenswert, daß selbst die erfahrensten Beobachter keine oder doch selten einwandfreie Mastzellenbilder im Blute gesehen haben dürften; im anderen Falle könnte Pappenheim*) nicht sagen: „Die histiogenen und hämatogenen Mastzellen haben nichts gemeinsam, wie die tinktorielle Metachromasie ihrer Körnung gegenüber roten und blauen basischen Anilinfarbstoffen. Eine echte, spezifisch in sich gleichmäßig konstante Körnung weisen nur die histiogenen Mastzellen auf; die Körnung der hämatogenen ist keine echte eigentliche Granulation. Sie ist sehr ungleichmäßig, meist grobklumpig, ungleichmäßig verteilt, oft wie zusammengelaufene tropfenförmige Schmelze.“ Und er könnte nicht weiter von ihr als dem Produkte einer pathologischen chemischen Degeneration der Zellleiber der Lymphozyten sprechen.

Diese Schilderung stimmt aufs Haar und geradezu glänzend für diejenigen Kunstprodukte, welche man durch unpassende Behandlung mit wässerigen Lösungen basischer Farbstoffe aus der Mastzellengranulation jeden Augenblick erzeugen kann, und welche Löwit ja sogar allen Ernstes für die Parasiten der myeloiden Leukämie erklärt hat. Zu derartigen Fehlschlüssen kann die Ignorierung einer so leicht festzustellenden Tatsache führen!

Behandelt man ein mastzellenhaltiges Bluttrockenpräparat nach geschehener Fixation vor der Färbung auch nur wenige Augenblicke mit Wasser, so ist es unter keinen Umständen mehr möglich, Mastzellengranula zu färben. Sie sind bereits aufgelöst. Verwendet man nach Hitzefixation wässerige Lösungen eines basischen Farbstoffes zur Färbung, so bleiben nur wenig Mast-

*) Folia hämatologica. 1904, März, S. 165, Anmerkung.

zellengranula (die tiefer in der Zelle liegenden) in ihrer natürlichen Form erhalten. Die meisten quellen auf, fließen zusammen, bilden ganz unregelmäßige klumpige Gebilde der verschiedensten Größe und der bizarrsten Formen an der Zelloberfläche, ein anderer Teil der sich lösenden Granulationssubstanz kann in den Kern diffundieren und diesen tief metachromatisch gefärbt erscheinen lassen. Schließlich wird die ganze Granulationssubstanz mit Ausnahme der vielleicht in den Kern übergetretenen Teile ganz aufgelöst und geht in die Färbeflüssigkeit über. Dies geschieht um so rascher, je wasserhaltiger und verdünnter die Farbstofflösungen waren, und kann durch Erwärmen der Farblösung noch beschleunigt werden.*) Stark auflösend wirken auch alle Lösungen saurer Farbstoffe, auch die alkoholischen; sowie man also z. B. mit alkoholischem Eosin vorgefärbt hat, gelingt es mit Methylenblau niemals, die Mastzellengranula zu färben; aus demselben Grund sind die Granula auch in Farbengemischen mehr oder weniger vollständig aufgelöst, soferne die Lösung nicht in sehr konzentriertem Alkohol erfolgte. Das einzige Konservierungsmittel für Mastzellengranula ist nämlich von all den in unserer hämatologischen Technik gebrauchten Substanzen der Alkohol, und zwar in gleicher Weise Äthyl- und Methylalkohol.

Bedingungen guter Mastzellenbilder.

Um in Deckglastrockenpräparaten also überhaupt brauchbare und kunstproduktfreie Mastzellenbilder zu erhalten, darf man das in Alkohol oder in Hitze fixierte Präparat ausschließlich in einer mindestens 50% absoluten Alkohol enthaltenden Lösung eines basischen Farbstoffes färben. Eosin-Methylenblau läßt die Granula nur gut erhalten, wenn der Farbstoff wie bei Jenner und May-Grünwald in reinem Methylalkohol gelöst ist.

Mastzellenbilder bei den üblichen Blutfärbungen.

Bei allen unseren üblichen Färbungsmethoden des Deckglastrockenpräparates — mit den erwähnten Ausnahmen — sind daher die Mastzellengranula vollständig oder fast vollständig aufgelöst. Das Protoplasma der Mastzellen erscheint als eine fast farblose Zone um den knäuelförmig zusammengelagerten Kern, und unter günstigen Verhältnissen kann man sogar in ihm deutlich hervor-

*) Vgl.: Türk, Wiener klinische Wochenschrift. 1900, Nr. 13, Verhandlungen des 18. Kongresses für innere Medizin. Wiesbaden, 1900 und Zieglers Beiträge. Bd. XXX, 1901.

tretend die ganz absolut weißen Lücken sehen, in denen ursprünglich die Granula lagen. Das gilt in ganz gleicher Weise für Triazid, Eosin-Methylenblau und Hämatoxylin-Eosinfärbungen. Nur hie und da — namentlich bei Methylenblaunachfärbung — sieht man innerhalb der weißen Lücken noch einen kleinen Rest der Granulationssubstanz, oder man nimmt noch ein kleines blaugefärbtes Fleckchen irgendwo im oder am Zelleibe wahr.

An dieser Eigenschaft — „negative Granulationsfärbung" genannt — kann man die Mastzellen in allen so gefärbten Präparaten gerade so gut erkennen, als ob die Granula gefärbt wären. Sie bieten ein ungemein charakteristisches Bild, das meiner Erfahrung nach auch dem Ungeübtesten, wenn es ihm ein paarmal gezeigt wurde, leicht erkennbar und vertraut wird.

Will man die Mastzellengranula gefärbt sehen, so verwende man eine der auf S. 223 angegebenen Methoden. Am schönsten sind ohne Frage die Bilder bei meiner Methylenblau-Jodfärbung, bei welcher die Granula durchaus wohl erhalten sind und tief schwarz gefärbt erscheinen.

Wer einmal ein gelungenes Präparat dieser Art gesehen hat, wird keinen Augenblick mehr an der Echtheit der Granulation der „hämatogenen" Mastzellen zweifeln können.

12. Vorlesung.

(Anschauungen über die Abstammung und den genetischen Zusammenhang der Leukozytenarten sowie über normale und pathologische Leukozytenbildung.)

Sie werden jetzt gewiß den Wunsch haben, von mir zu erfahren, woher die nunmehr besprochenen Leukozytenarten stammen und wie sie untereinander zusammenhängen.

Damit wird eine große Frage aufgerollt, welche in den letzten acht bis zehn Jahren alle mit Blut und blutbereitenden Organen in irgend einer näheren Verbindung stehenden Geister aufgeregt und zu sehr vielen, sehr langen, sehr gelehrten, sehr komplizierten und trotzdem an sich auch zum großen Teile sehr schönen Arbeiten angeregt hat. Wenn Sie aber glauben, daß durch diese große Summe von Arbeiten Klarheit in die Frage gebracht worden sei, so spricht aller Anschein sehr dagegen. Denn die augenfälligsten Ergebnisse dieser Arbeiten sind eine Menge neuer Namen, eine verwirrende Umdeutung der von altersher gebrauchten, und zwar eine Umdeutung in recht verschiedenem Sinne je nach den Anschauungen des betreffenden Autors, eine Reihe verschiedener Ansichten, die einander möglichst gerade schnurstracks entgegenlaufen und endlich als Krönung des Ganzen eine runde Zahl von Leukozytenstammbäumen oder genealogischen Leukozytensystemen, welche hie und da einen Gliederreichtum aufweisen wie die Stammbäume weit verzweigter Adelshäuser. Allgemeine und kritische Vorbemerkungen.

Nennen Sie diese Bemerkungen nicht boshaft; sie entsprechen leider den Tatsachen. Trotz alledem aber meine ich, daß es um unsere Sache besser steht als es scheint, daß die vielen neuen Arbeiten wirklich sehr vieles Neue zur Klärung unserer Frage gebracht haben, und daß die Verwirrung nur

künstlich dadurch erzeugt und aufrecht erhalten wird, daß eine einigende und bezähmende Kraft fehlt, welche das Wertvolle der Einzelergebnisse zusammenfaßt und die nicht selten über das wirklich berechtigte Maß und Ziel hinausschießenden Schlußfolgerungen in ihre Grenzen zurückweist.

Während man in der Zeit, da Ehrlich die Grundlagen für unsere moderne Hämatologie schuf, vom Blute ausging und vom Normalen zum Pathologischen vorzudringen bestrebt war; während man damals aus den zu einer gewissen Klarheit erhobenen histologischen Blutbefunden unter normalen und pathologischen Verhältnissen unter vorsichtiger Heranziehung der noch sehr mangelhaften und unsicheren Befunde seitens der blutbereitenden Organe in gegenseitiger Abwägung Schlüsse auf die Herkunft und den Zusammenhang der im Blute fertig vorliegenden Endprodukte einer zweifellos sehr ins einzelne gehenden Zelldifferenzierung zu ziehen trachtete, hat man in den letzten Jahren mit kühnem Griffe die Methodik umgekehrt. Fast ausnahmslos alle neuen Arbeiten gehen von Embryologen und Anatomen aus, die Grundlage fast aller Untersuchungen bildet das embryonale Knochenmark nicht etwa nur des Menschen oder der uns am nächsten stehenden Säuger, sondern sehr vielfach auch das Blutbildungssystem der niedrigsten Vertebraten. Man glaubt nicht mit Unrecht, dort die primitivsten Verhältnisse zu finden, von denen aus die Erklärung der komplizierteren Vorgänge bei der Blutbildung der höheren Tierklassen am leichtesten gelingen müsse.

Das ist ja ein einwandfreier Gedanke; aber man darf nicht ohneweiters die Ergebnisse derartiger vergleichend-embryologischer Untersuchungen auch auf das extrauterine Leben übertragen, in welchem doch durchaus andere Verhältnisse in jeder Hinsicht obwalten, und namentlich darf man nicht, wie das auch geschieht, die Knochenmarksbefunde von einem Frosch- oder einem Kaninchenembryo als maßgebend ansehen für die Blutbildung des normalen erwachsenen Menschen. Ja man darf auch nicht einmal die Befunde von einem Menschenembryo auf den Erwachsenen, von einem kranken Menschen auf den gesunden übertragen, ohne sich dessen bewußt zu sein, daß sich da Dinge ändern könnten, welche unseren bezüglich Knochenmark noch lange nicht auf der Höhe stehenden Untersuchungsmethoden unnahbar bleiben.

Ich will mit diesen allgemeinen Bemerkungen nur darauf hinweisen, daß auch das sorgfältigste Studium der blutbereitenden Organe in dem angedeuteten Sinne allein nicht ausreicht, um in unserer Frage Klarheit zu schaffen. Man wird doch wieder so wie vor Jahren zugeben müssen, daß auch der Kliniker ein Wort in dem Streit mitspreche, und wird sich dazu verstehen müssen, die Knochenmarksforschung durch eine nüchterne und objektive aber ebenso sorgfältige klinisch-histologische Beobachtung des Blutbildes unter den verschiedensten pathologischen Verhältnissen zu ergänzen und zu kontrollieren. Einseitige Arbeit kann ja gar nicht zu einem allseits befriedigenden Ergebnisse führen.

Der Umstand, daß die klinische Beobachtung durch das ausschließliche Überwiegen anatomischer und embryologischer Studien gerade in den letzten Jahren in ganz unberechtigter Weise in den Hintergrund gedrängt wurde, trägt meines Erachtens sehr viel Schuld an der Ungeklärtheit unserer Frage. Denn die histologischen Untersuchungsmethoden des Blutes stehen ohne Zweifel auf einer Höhe, wie keine andere histologische Methodik. Die Feinheit ihrer Unterscheidungen ist im Organschnitte niemals wieder zu erreichen, und auch die Übertragung dieser Technik auf die Untersuchung der blutbereitenden Organe hat, wie wohl jeder zugeben muß, ihre schwachen Seiten. Es gelingt doch niemals, im Knochenmarke dieselbe Schärfe der Differenzierung zu erreichen, wie im Deckglaspräparate des Blutes, selbst wenn man genau dieselbe Technik mit der größten Sorgfalt zur Anwendung bringt. Und andererseits gibt die Methode der Deckglasstrichpräparate unmöglich ein klares Bild von der Struktur des Markes; es müßte wohl die Schnittmethode in einer bis heute noch nicht endgültig erreichten Vervollkommnung mit der Deckglasmethode vereinigt werden, und zur Ergänzung und Kontrolle müßte immer wieder das periphere Blut herangezogen werden — dann würde sich, wie ich glaube, in kurzer Zeit auf Grund der bis heute vorliegenden sehr schätzenswerten Einzelforschungen ein allseits befriedigendes, weil allseits begründetes Gesamtbild der Blutbildung unter normalen und pathologischen Verhältnissen, ein Bild des Zusammenhanges zwischen Blutbildung und Blutbefund und des Zusammenhanges zwischen den einzelnen Elementen des Blutes und der blutbereitenden Organe entwerfen lassen.

Ansichten neuerer Autoren über Bildung und Zusammenhang der verschiedenen Leukozytenarten.

Ich will es nun versuchen, die in der Literatur der letzten Jahre niedergelegten anatomischen Forschungen mit meinen rein klinisch-hämatologischen Befunden bei den verschiedensten Erkrankungen, insbesondere jenen der blutbereitenden Organe, deren Blutmorphologie für unsere Frage von einschneidendster Bedeutung ist, in Verbindung zu bringen. Wir wollen ja sehen, ob für uns dann die Frage der Leukozytenbildung und Blutbildung überhaupt klarer geworden ist oder nicht, und ob es uns gelingt, aus den bisher vorliegenden Tatsachen auf beiden Gebieten — der anatomischen und klinisch-hämatologischen Forschung — zu einem Schlusse über den Zusammenhang der im Blute kreisenden Leukozytenarten zu kommen.

Als Grundlage muß ich eine Zusammenfassung der bisher geltend gemachten Auffassungen über beide Fragen vorausschicken. Bis zum Einsetzen der Arbeiten Ehrlichs hatte man der Frage von der Verschiedenheit der Leukozytenarten wenig Bedeutung beigelegt. Erst Ehrlich machte dieses Forschungsgebiet urbar und modern, und seither ist es der gründlichsten und verschiedenartigsten Bearbeitung unterzogen worden.

Ältere Ansichten.

Zunächst war seit Virchow die Meinung vorherrschend, daß alle Leukozytenarten direkt aus einer Zelle hervorgehen und als Produkte der Alterung dieser Zelle anzusehen seien. So entwickelte sich die Lehre, welche einen ihrer Hauptvertreter in Uskoff fand, zu den ganz präzisen Sätzen: Die jungen Zellen sind die Lymphozyten, reife Zellen sind die großen einkernigen oder gelapptkernigen Leukozyten und alte, gewissermaßen überreife Zellen sind die polymorphkernigen. Müller und Rieder ließen nun noch aus den polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten die Eosinophilen hervorgehen, die also schon ganz ins Greisenalter gerückt erscheinen.

Ehrlichs System der Leukozytenbildung.

In strikten Gegensatz zu dieser Lehre stellt sich Ehrlich. Nach den Ergebnissen seiner Forschungen ist die morphologische Differenzierung der Leukozyten nicht der Ausdruck einer verschieden weit vorgeschrittenen Alterung einer Ursprungszelle, sondern die Folge ihres verschiedenen Ursprunges. Er stellt zwei Organsysteme der Blutbildung einander schroff gegenüber: das lymphoide und das myeloide System. Neben ihnen

scheint noch die Milz eine gewisse Bedeutung für die Blutbildung zu haben, doch ist sie beim Menschen als sehr gering anzuschlagen; die Zellen, welche ihrer Tätigkeit entstammen dürften, können auch vom Knochenmarke gebildet werden. Aus dem lymphoiden Systeme stammen ausschließlich die größeren und kleineren Formen der Lymphozyten, also ausschließlich ungranulierte Zellen. Das Myeloidsystem hingegen leistet eine weitaus höhere Differenzierung, indem das Protoplasma der aus ihm hervorgehenden Zellen durch die Bildung von Granulationen eine funktionelle Bedeutung erlangt, welche den Produkten des Lymphoidsystemes niemals zukommt. Im Knochenmarke bilden sich die im Blute kreisenden polymorphkernigen granulierten Zellen durch Teilung aus einkernigen granulierten Elementen, welche dort als Parenchymzellen vorgebildet sind. Die Produkte dieser Teilung reifen aus, indem der einfache Kern durch eine gelappte Übergangsform sich in den polymorphen umgestaltet, und dieser Kernreifung geht ungefähr parallel eine Reifung der Granulation. Die unreifen einkernigen Zellen nämlich haben in ihrer Granulation eine stärkere basophile Komponente, welche während der Reifung immer mehr und mehr verschwindet und einer neutrophilen oder eosinophilen Beschaffenheit Platz macht. Während dieser Zeit der Reifung finden sich in den Zellen des Knochenmarkes öfters verschieden färbbare Granula nebeneinander. So kann eine zur neutrophilen ausreifende Zelle vorwiegend basophile Granula enthalten. Viel deutlicher ist dies bei den oxyphilen Granulis. Die unreifen Formen dieser Körnung nehmen manchmal sogar ziemlich viel basischen Farbstoff auf, so daß sie bei Färbung mit Eosin-Methylenblau violett, ja bläulich erscheinen können. Jedenfalls aber verhalten sie sich verschieden von den Granulis der reifen Körnung, wenn man sie mit Gemischen saurer Farbstoffe behandelt. Sie sind wasserreicher und haben größere Intermicellarräume; daher vermögen sie die größeren Moleküle der dunklen Farbstoffe aus der Reihe der Farbsäuren aufzunehmen und färben sich vorwiegend mit diesen, z. B. mit Indulinen, indessen die reiferen Granula ein dichteres Gefüge besitzen, die großen Moleküle der dunklen Farbkörper also nicht mehr aufnehmen können und daher die Farbstoffe mit kleineren Molekülen, welche zugleich immer heller werden, bevorzugen, um schließlich allein von ihnen in Besitz genommen zu werden. Wenn sich also in einer granulierten Zelle Körnchen

von verschiedener Färbbarkeit finden, so ist das der Ausdruck einer mangelhaften Zellreifung, und die dunkleren Granula sind als die unreifen zu betrachten. Nur die Mastzellengranulation ist und bleibt dauernd basophil und ist gegenüber allen anderen zeitweilig basische Farbstoffe aufnehmenden Körnungen durch die Fähigkeit der metachromatischen Färbung strenge abgegrenzt.

Eine einzige Ausnahme von der Regel, daß sich die polymorphkernigen granulierten Zellen aus einkernigen Zellen des gleichen Granulationstypus im Knochenmarke entwickeln, läßt Ehrlich zu, indem er annimmt, daß ein Teil (gewiß ein kleiner Teil) der polymorphkernigen neutrophilen Zellen sich im Blute selbst aus den Übergangsformen der großen mononukleären Leukozyten entwickle.

Der Granulation kommt nach Ehrlich eine große Bedeutung zu, indem er sie als spezifisches Stoffwechselprodukt ganz bestimmter Zellarten ansieht, dermaßen, daß eine bestimmte Zelle durch eine Art von Sekretionsvorgang nur eine ganz bestimmte einzige Art von Granulation hervorzubringen vermag. Verschiedenen Leukozytenarten kommen verschiedene Granula zu; niemals finden sich in einem Leukozyten verschiedenartige Granula, und ebenso findet ein Übergang von dem einen zu einem anderen Granulationstypus nicht statt.

Weiters scheidet Ehrlich die Granula in zwei große Gruppen: die eine, welche allen Wirbeltierarten vom Frosche bis zum Menschen gemeinsam ist, das sind die eosinophilen und die Mastzellengranula, und eine zweite, welche ein für bestimmte Tierarten charakteristisches Merkmal darstellt und sich bei anderen Klassen der Wirbeltiere nicht findet: Diese heißen „Spezialgranula". Sie zeigen bei den verschiedenen Tiergruppen ein verschiedenes färberisches und morphologisches Verhalten, immer aber bevorzugen sie die sauren oder neutralen Anilinfarben. Mensch und Affe teilen sich z. B. in die neutrophile Granulation, Kaninchen und Meerschweinchen besitzen an ihrerstatt die pseudoeosinophile gröbere Körnung, die Vögel haben zwei Arten von Spezialgranulis nebeneinander.

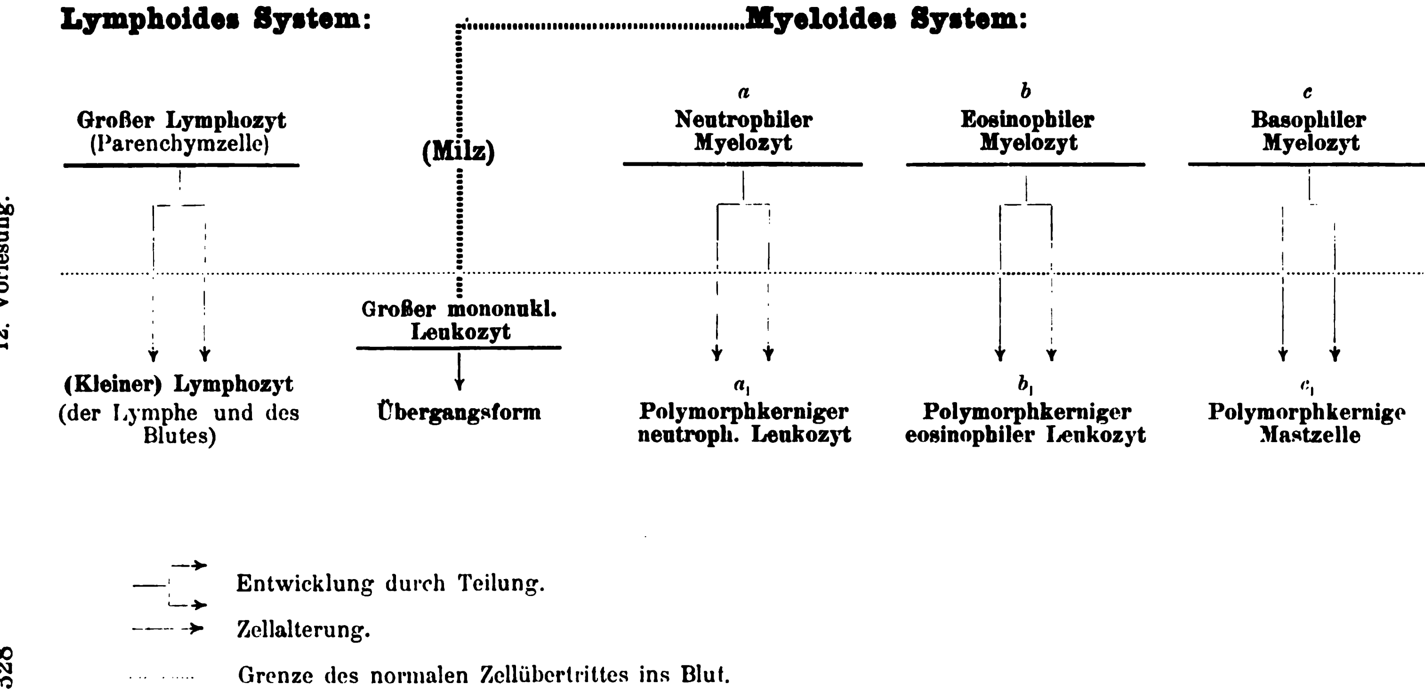
Noch ein biologischer Vorgang zwingt zu der strikten Trennung des lymphoiden Systems und seiner Produkte vom myeloiden Systeme: Die aus dem letzteren stammenden Zellen besitzen die Fähigkeit amöboider Bewegung, sind also imstande, auf bestimmte „chemo-

taktische" Reize hin aktiv in die Blutbahn und in die Gewebe auszuwandern. Die chemotaktischen Reize sind verschiedener Natur, und es wirken auch auf die verschiedenen Zellarten nur bestimmte Reize; die eosinophilen Zellen folgen anderen Reizen als die neutrophilen, und noch anderen die Mastzellen. Die Lymphozyten hingegen sind einer amöboiden Bewegung völlig unfähig, sie können also nicht aktiv auf bestimmte Reize hin auswandern. Wenn es zu einer vermehrten Ausschwemmung derselben in die Lymphe und das Blut kommt, so rührt das ausschließlich von einer stärkeren Durchströmung der Lymphdrüsen in irgend welchen Bezirken her, wobei der Lymphstrom dann mechanisch eine größere Zahl von Zellen mit sich reißt.

Auf dieser bis ins feinste Detail ausgearbeiteten Grundlage baut sich Ehrlichs Leukozytensystem vollkommen logisch auf. Streng zu trennen sind von allen anderen Arten zunächst die einzigen Abkömmlinge des lymphoiden Systems, die Lymphozyten. Sie stehen mit keiner anderen Zellart des Blutes in genetischer oder andersartiger Verbindung und gehen auch niemals in die großen mononukleären Leukozyten über. Diese stammen vielmehr aus Milz und Knochenmark und stehen jedenfalls dem myeloiden Systeme sehr nahe, was sich auch in dem gelegentlichen Übergange in neutrophil gekörnte Zellen dokumentiert. Die polymorphkernigen granulierten Zellen des Blutes sind die fertigen Endprodukte des im Marke vor sich gehenden Reifungsprozesses der daselbst als präformierte Parenchymzellen seßhaften einkernigen Zellen (Myelozyten). Sie trennen sich nach ihrer Granulation in Neutrophile, Eosinophile und Mastzellen, und jede dieser Arten geht aus einer entsprechend granulierten einkernigen Markzelle hervor. Auch sie stellen also gegeneinander vollkommen abgeschlossene Entwicklungsreihen dar; Übergänge fehlen.

Gegen diese Lehre Ehrlichs, welche im letzten Dezennium des vorigen Jahrhunderts die unbedingte Oberherrschaft behauptete, und von welcher Ehrlich selbst meinte, daß sie einen gewissen Abschluß der morphologischen Blutlehre bedeute, hat sich nun lebhafter Widerspruch erhoben. Die meisten der embryologischen und anatomischen Untersuchungen, von denen ich eingangs sprach, richten sich gegen einzelne ihrer Sätze oder gegen das ganze Gebäude. Gegner der Lehre Ehrlichs.

Schema der Leukozytenbildung nach Ehrlich.



Hauptsächlich sind es zwei Punkte, gegen welche sich die Angriffe richten: erstens die Lehre von der Spezifität der Granulation und deren Sekretcharakter, und zweitens die Lehre von der scharfen Trennung der Lymphozyten von den granulierten Zellen. In ersterer Hinsicht wird behauptet und zu beweisen gesucht, daß doch verschiedenartige Granula, welche nicht verschiedene Reifestadien einer Art von Körnung darstellen, in einer und derselben Zelle vorkommen können; in der zweiten Hinsicht leitet man die granulierten Zellen doch wieder von ungranulierten ab und stellt so eine direkte Verbindung von Lymphozyten und granulierten Zellen her, indem man eine lymphoide Zelle, die allerdings verschieden benannt wird, als den gemeinsamen Ausgangspunkt aller Leukozytenentwicklung hinstellt wie ehedem.

Der Hauptgegner der Ehrlichschen Anschauungen in bezug auf Spezifität der Granulation ist Arnold mit seinen Schülern. Arnolds Anschauungen über Entwicklung und Bedeutung der Zellgranula.

Arnold*) fand zunächst das — wie wir gesehen haben, von Ehrlich selbst anerkannte — Vorkommen verschieden gefärbter Granula in einer Zelle. Er sprach sich jedoch dagegen aus, hierin nur den Ausdruck eines verschiedenen Reifungszustandes zu sehen; sie weisen ihm vielmehr darauf hin, daß die feineren Körnchen bei Kaninchen und Menschen (den Objekten seiner Untersuchungen), von denen die ersteren mehr acidophile, die letzteren mehr neutrophile Eigenschaften besitzen, sich in die größeren, sogenannten eosinophilen Granula umwandeln dürften. Er schreibt auch ebenso wie sein Schüler Hesse**), der eine schöne Zusammenfassung der Ansichten der Arnoldschen Schule gibt, den Granulationen eine höhere Wertigkeit als die eines Sekretes zu. Nach den neueren Anschauungen spielen die Leukozyten eine große Rolle bei der Bildung von Antitoxinen und bakteriziden Stoffen. Wenn die Leukozyten ihre Aufgabe, als Schutzorgan des Organismus gegen Schädlichkeiten zu dienen, erfüllen sollen, so muß ihren Granulationen, an welche diese Funktion gebunden ist, eine „aktivere funktionelle Stellung innerhalb der Zelle zukommen", und es muß ihnen eine ganz „außerordentliche Anpassungsfähigkeit im Sinne eines vielseitigen Stoffwechsels" zugeschrieben werden (Hesse). Sie dürften demnach

*) Virchows Archiv. Bd. 140, 1895 und Bd. 157.
**) Virchows Archiv. Bd. 167, 1902.

mit der Aufnahme, dem Umsatze und der Abgabe gewisser Stoffe in Zusammenhang stehen. Es müssen auch nicht alle Granula der gleichen Funktion dienen. Möglicherweise sind die einen der Ausdruck nutritiver, beziehungsweise sekretorischer Vorgänge, während die anderen Phasen einer fortschreitenden Entwicklung, einer formativen Tätigkeit, anzeigen. Während des Vollzuges der verschiedenen Stoffwechselvorgänge ändern nunmehr die Granula ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften, indem sie z. B. aus acidophilen zu basophilen werden und umgekehrt. Eine Einteilung der Knochenmarkszellen auf Grund des Verhaltens der Granula hält Arnold zur Zeit für unmöglich, weil dieselben Granula in verschiedene Zellformen und verschiedene Granula in der gleichen Zelle vorkommen.

Eine besondere Stütze für die Richtigkeit dieser seiner Anschauungen findet Arnold in Untersuchungen über die feinere Struktur des Protoplasmas der Leukozyten und der Knochenmarkszellen. Als Formelemente ihrer Zellsubstanz sieht er die sogenannten Plasmosomen an, rundliche, sphärische oder mehr stäbchenförmige Gebilde, welche den Eindruck von Fäden mit eingelagerten Granulationen machen. Sie umschließen nämlich körnige Innenkörper, welche je nach der Anordnung der umhüllenden Substanz und ihrer wechselnden Größe entweder dicht aneinander gereiht oder in größeren Abständen voneinander gelagert erscheinen. Die einzelnen Plasmosomen sind untereinander durch fädige oder stäbchenförmige Fortsätze zu Systemen verbunden, welche bald eine netzförmige oder spongiöse, bald eine fädige Architektur des Protoplasmas bedingen. Die Lücken zwischen den Plasmosomensystemen sind von einer hyalinen Substanz, die man Paraplasma nennen könnte, erfüllt. Das Vorkommen isolierter Granula außerhalb der Plasmosomen wird jedoch nicht geleugnet. Neben den gefärbten Granulationen der Plasmosomen fand Arnold bei vitaler Färbung auch ungefärbte Körner; er meint daher, daß die gefärbten jenen Teil der Plasmosomeninnenkörper ausmachen, welcher bereits eine Umwandlung erfahren hat. Weiters setzte Arnold die Leukozyten der Einwirkung von Eisen und von Fetten verschiedener chemischer Konstitution aus und schließt aus den Ergebnissen dieser Untersuchungen „auf eine Umwandlung der Plasmosomen in sidero- und lipofere Granulationen". Er fand nämlich, daß manche Zellen

ungefärbt bleiben, während andere „außer den durch Eosin rotgefärbten Granulationen blaue oder schwarze Granula in derselben Anordnung enthielten". Diese äußerst wechselnde Reaktion der Granula innerhalb einer und derselben Zelle sprach ihm dafür, daß es sich hier um Funktionsäußerungen der Granula handelt.

Zu ganz ähnlichen Schlüssen wie sein Lehrer gelangt Hesse. Auch er hält die Granula nicht für ein Sekret, sondern für einen Strukturbestandteil des Zellprotoplasmas, schreibt ihnen gleiche funktionelle Leistungen zu wie Arnold, und sieht Übergänge der einen Leukozytenart Ehrlichs in eine andere als wahrscheinlich an. Er hält eine auf der Farbenanalyse basierte Klassifikation der Leukozyten für nicht beweiskräftig und sieht sich „vielmehr dazu gedrängt, an einer einheitlichen Auffassung der granulierten Leukozyten festzuhalten, hiebei aber eine außerordentliche Labilität und Anpassungsfähigkeit und Mannigfaltigkeit der Funktion der Leukozyten wie insbesondere der Granula anzunehmen".

Die hypeosinophile Granulation von Grünwald.

Von einer anderen Seite her greift Grünwald*) die Lehre von der Spezifität der Granula an. Ihm und May ist es gelungen, im Sputum alle feinkörnigen Granula der Eiterzellen, welche doch allgemein als neutrophil gelten, mit Eosin zu färben; auch mit Triazid nehmen sie einen roten (sauren), nicht den violetten (neutralen) Farbenton an. Er nennt diese Granula daher hypeosinophil und geht daran, darzutun, daß von den echten neutrophilen zu den echten eosinophilen Granulationen eine große Reihe von vermittelnden Zwischenstufen bestehe. Er konnte in einem Falle bei sonst typischen eosinophilen Granulationen eine verminderte Säurebeständigkeit nachweisen, einmal auch eine Annäherung an den neutralen Farbenton, ebenso näherte sich ihre Form manchmal jener der hypeosinophilen, unter welchen wieder sehr verschieden große, feinere und gröbere Granula vorkommen. Da er auch die neutrophilen Zellen des Blutes „hypeosinophil" fand, kommt er zu dem Schlusse, daß sich ein durchgreifender prinzipieller Unterschied zwischen eosinophilen und hypeosinophilen Granulationen weder aus der Färbung noch aus der Form ableiten lasse, und stellt elf Varietäten von granulierten Zellen auf, welche die Vermittlung und den lückenlosen Übergang zwi-

*) Virchows Archiv. Bd. 158, 1899; Zentralblatt für innere Medizin, 1902.

schen neutrophilen, hypeosinophilen und eosinophilen Zellen vorstellen sollen. Dazu ist es ihm, wie schon früher Hirschfeld und später Schur, gelungen, neutrophile Granula auch mit Methylenblau, also einem basischen Farbstoffe, zu färben.

Anfügen möchte ich hier, daß St. Klein*) die neutrophilen Granula durch Hämoglobinaufnahme in eosinophile Granula übergehen läßt. Sie erfüllen dadurch einen Teil ihrer physiologischen Aufgabe, welcher in der Aufnahme überschüssigen Blutfarbstoffes bestehen soll.

Durch die angeführten und noch eine Reihe weniger belangreicher Arbeiten, die ich übergehe, wird also Ehrlichs Lehre von der Spezifität der Granulation von verschiedenen Seiten her angegriffen und als unzulässig erklärt, womit sein ganzes Leukozytensystem in die Brüche gehen müßte.

Pappenheims Arbeiten über den Zusammenhang von ungranulierten und granulierten Leukozyten.

Einen warmen Verteidiger hingegen hat Ehrlichs Lehre in Pappenheim**) gefunden. Er schließt sich, was die Lehre von den Granulationen betrifft, in jeder Hinsicht an Ehrlich an. Dagegen rüttelt er mit Macht an der anderen Grundfeste von Ehrlichs Leukozytensystem, an der prinzipiellen Trennung von lymphoidem und myeloidem System, von ungranulierten und granulierten Zellen.

In einer großen Reihe von Arbeiten, auf die ich naturgemäß in dieser summarischen Zusammenfassung im einzelnen nicht eingehen kann, macht er die Lehre geltend und baut sie immer mehr und mehr aus, daß eine große einkernige und amblychromatische Zelle, welche er als „großen Lymphozyten" bezeichnet, den Ausgangspunkt der gesamten Blutbildung darstelle. Er sieht in der lymphoiden, basophilen, granulationslosen Rundzelle das variabelste tiefststehende Element zytogenen Gewebes. Alle Zellen des peripheren Blutes können zum mindesten aus dem Knochenmarke stammen, auch die Lymphozyten, und dementsprechend findet er in jedem Knochenmarke Zellen, welche sich morphologisch und tinktoriell wie Lymphozyten verhalten. Sie kommen im Marke als kleine und große Lymphozyten vor, die ersteren so zahlreich, daß sie wohl nicht gut als eingeschwemmt betrachtet werden können, die letzteren jedenfalls autochthon, da

*) Zentralblatt für innere Medizin. 1899. Heft 4 und 5.

**) Virchows Archiv. Bd. 157, 159, 164; Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. 43 und 47.

sie sich im zirkulierenden Blute nicht finden. Auf der anderen Seite kann er die Auffassung Ehrlichs, daß die großen mononukleären Leukozyten von den Lymphozyten strenge zu trennen seien, nicht anerkennen und sieht in der Meinung Ehrlichs daß ein Teil der polymorphkernigen neutrophilen Zellen aus diesen Gebilden hervorgehen solle, eine Inkonsequenz gegen seine eigene Lehre.

Er gibt allerdings zunächst zu, daß im normalen Zustande beim Menschen die granulierten Elemente aus dem Marke, die Lymphozyten aus den Lymphdrüsen und die großen mononukleären Leukozyten aus der Milz stammen dürften. Doch finden sich auch in den Lymphdrüsen, geradeso wie in der Milz und dem Marke, „große mononukleäre Leukozyten“ Ehrlichs; es finden sich granulierte Zellen in Milz und Lymphdrüsen, und im Knochenmarke spielen die granulationslosen Zellen eine wesentlich größere Rolle, als ihnen Ehrlich zugestanden hat. Man ist also nicht berechtigt, nach den Ergebnissen der Farbenanalyse die Zellen nach ihrer Herkunft aus verschiedenen Organen zu klassifizieren. Die Namen „Lymphozyt“, „Myelozyt“ und „Leukozyt“ sind vielmehr jeder histogenetischen Bedeutung zu entkleiden und weiter zu fassen.

Unter „Lymphozyten“ versteht sonach Pappenheim „alle Zellen mit körnchenfreien basophilen Zellleibern, ganz unabhängig von der Kernform. Sie bilden die eine Hauptgruppe der weißen Blutzellen, deren Zusammengehörigkeit insbesondere durch das vollkommen einheitliche Verhalten gegenüber der Färbung mit dem Methylgrün-Pyroningemische zum Ausdrucke kommt. Ihr stellt Pappenheim als zweite Hauptgruppe jene der körnchenführenden „Granulozyten“ gegenüber, welche wieder nach dem Verhalten ihrer Körnung als neutrophile, eosinophile und basophile unterschieden werden.

In beiden diesen Gruppen unterscheidet er wiederum je nach dem Chromatinreichtum der Kerne, so wie das schon bei den kernhaltigen Erythrozyten geschehen ist, amblychromatische (blaßkernige) und trachychromatische (dunkelkernige) Zelltypen, und gibt diesen beiden Arten in der Gruppe der Lymphozyten die Namen: große und kleine Lymphozyten, in der Gruppe der Granulozyten die Namen: Myelozyten und

Leukozyten; auch diese letzteren Namen sind jetzt wieder einer histogenetischen Bedeutung bar.

Endlich sieht er in der runden Beschaffenheit des Kernes den Ausdruck seiner Jugendlichkeit. Die Zellalterung geht bei allen Leukozytenarten in derselben Weise vor sich, indem der anfangs runde Kern sich zunächst in den gelappten Übergangskern und später in den polymorphen Kern umwandelt. Dies geschieht bei den Lymphozyten ebensowohl wie bei den Granulozyten, und bei amblychromatischen Zellen ebenso wie bei trachychromatischen. Ein kleiner Lymphozyt altert also z. B. nicht, indem er in einen großen mononukleären Leukozyten oder in einen granulierten Leukozyten übergeht, sondern indem er einen gelappten oder polymorphen Kern bekommt (Riedersche Zellen).

Bei dieser Einteilung steht Pappenheim streng auf dem Standpunkte, daß zwar alle Zellen des Markes und der Lymphdrüsen sowie des Blutes auf eine gemeinsame Stammform („Hämatogonie"), als welche der amblychromatische große Lymphozyt angesehen wird, zurückgeführt werden müssen, daß dagegen die einmal differenzierten Zellen eine durchaus getrennte Weiterentwicklung durchmachen und niemals mehr ineinander übergehen können, daß weiters alle zelligen Elemente des Blutes beim erwachsenen Menschen als reife Gebilde anzusehen sind.

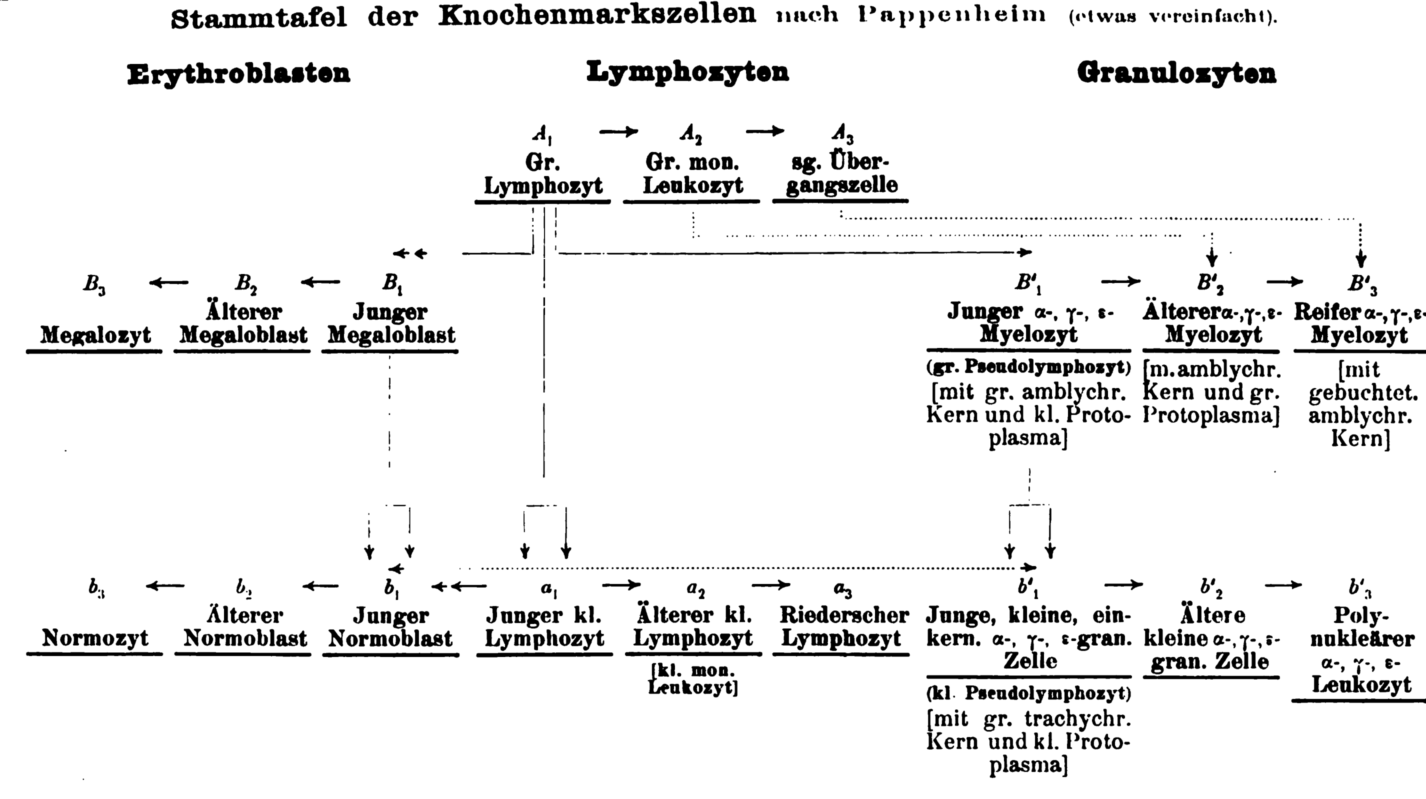
Die Differenzierung aber erfolgt in doppelter Weise: Entweder im Sinne einer zytogenetischen Alterung, indem der ursprünglich einfache rundliche Kern sich in einen gelappten oder polymorphen Kern desselben Typus umwandelt, oder aber im Sinne einer differenzierenden indirekten Teilung, durch welche aus Zellen des amblychromatischen (blaßkernigen) Typus rundkernige Zellen der trachychromatischen Art entstehen, welche jetzt ihrerseits wieder ihren Kern im Sinne der Alterung weiter entwickeln können.

Ich bemerke nun noch ausdrücklich, was übrigens schon bei Besprechung der Erythrozytenbildung hervorgehoben wurde, daß Pappenheim auch die kernhaltigen roten Blutzellen aus den mindestdifferenzierten hämoglobinfreien Zellen der blutbereitenden Gewebe durch „heteroplastische Transformation" hervorgehen läßt, und zwar die Megaloblasten aus den großen Lymphozyten, die Normoblasten aus den kleinen

Lymphozyten. Diese wenig differenzierten Zellen haben also eine enorme Entwicklungsfähigkeit nach den verschiedensten Richtungen hin; welche Richtung sie einschlagen, hängt wohl von durchaus unbekannten Reizen ab, denen sie nachgeben, wie sie eben einwirken. Auf diesen Grundlagen baut sich Pappenheims genealogisches System der Knochenmarkszellen auf, das ich im folgenden skizziere:

Ausgangspunkt und Stammzelle ist der große (blaßkernige) Lymphozyt. Dieser kann entweder altern, dann wird er zum großen mononukleären Leukozyten und zur Übergangszelle, welche zwei Zellarten bereits im normalen Blute vorkommen, während die Stammzelle in diesem fehlt. Der große Lymphozyt aber kann sich durch heteroplastische Transformation zu einem (blaßkernigen) Megaloblasten umgestalten, welcher seinerseits wiederum entweder altern und schließlich zu einem Makrozyten werden kann, oder aber durch differenzierende Teilung dunkelkernige junge Normoblasten bildet, die ihrerseits altern und als Normozyten im peripheren Blute ihren Lebenslauf abschließen. Drittens kann der große Lymphozyt eine Differenzierung seines Protoplasmas im Sinne der Granulationsentwicklung durchmachen, wobei einkernige amblychromatische Zellen mit oxyphiler (α), basophiler (γ) oder neutrophiler (ε) Granulation entstehen: junge α- oder γ- oder ε-Myelozyten. Diese vermögen ihrerseits wiederum entweder durch Kernumformung zu altern zu älteren und reifen Myelozyten desselben Granulationstypus, oder aber durch differenzierende Teilung kleinere dunkelkernige und einkernige Zellen mit α-, γ- oder ε-Granulation zu bilden, welche als α-, γ- oder ε-„Pseudolymphozyten" bezeichnet werden. Diese endlich haben nur mehr den Weg der Alterung offen und bilden als Endprodukte dieser Entwicklung die polymorphkernigen α-, γ- und ε-Leukozyten, welche erst ins strömende Blut gelangen. Viertens kann der große Lymphozyt nun selbst eine differenzierende Teilung eingehen und erzeugt hiedurch das Geschlecht der kleinen dunkelkernigen Lymphozyten, die ihrerseits die Fähigkeit haben durch heteroplastische Umwandlung Normoblasten zu bilden, sonst aber einfach altern und in allen Altersstadien im peripheren Blute erscheinen.

So stand Pappenheims Gebäude, ein stolzer, dreiflügeliger Bau, in allen seinen Teilen dicht bevölkert von den durch heteroplastische Umwandlung des Zelleibes, durch Granu-


Stammtafel der Knochenmarkszellen nach Pappenheim (etwas vereinfacht).
Erythroblasten
Lymphozyten
Granulozyten
A_1 Gr. Lymphozyt
A_2 Gr. mon. Leukozyt
A_3 sg. Übergangszelle
B_3 Megalozyt
B_2 Älterer Megaloblast
B_1 Junger Megaloblast
B'_1 Junger α-, γ-, ε-Myelozyt
(gr. Pseudolymphozyt) [mit gr. amblychr. Kern und kl. Protoplasma]
B'_2 Älterer α-, γ-, ε-Myelozyt
[m. amblychr. Kern und gr. Protoplasma]
B'_3 Reifer α-, γ-, ε-Myelozyt
[mit gebuchtet. amblychr. Kern]
b_3 Normozyt
b_2 Älterer Normoblast
b_1 Junger Normoblast
a_1 Junger kl. Lymphozyt
a_2 Älterer kl. Lymphozyt
[kl. mon. Leukozyt]
a_3 Riederscher Lymphozyt
b'_1 Junge, kleine, einkern. α-, γ-, ε-gran. Zelle
(kl. Pseudolymphozyt) [mit gr. trachychr. Kern und kl. Protoplasma]
b'_2 Ältere kleine α-, γ-, ε-gran. Zelle
b'_3 Polynukleärer α-, γ-, ε-Leukozyt
Direkte zytogenetische Altersentwicklung.
Direkte heteroplastische Transformation.
Homoplastische Differenzierung durch Zellteilung.
Unter Umständen mögliche Entwicklung.

lationsbildung, durch einfache Alterung oder durch indirekte Teilung entstandenen vielfach gearteten, blaß- und dunkelkernigen, hämoglobinführenden und hämoglobinfreien, ungranulierten oder in dreifacher Art granulierten Sprößlingen des einen, wundervoll vielseitig für die Ausgestaltung der Art tätigen Stammvaters. Ich bemerke nebenbei, daß ich Ihnen ein paar nur ausnahmsweise begangene Nebenwege der Entwicklung in diesem ohnehin schon etwas komplizierten genealogischen Systeme schonend verschwiegen habe.

Da gelang es nun Michaëlis und Wolff*), durch Anwendung der Romanowskyschen Färbung in den Lymphozyten „azurophile", sonst nicht darstellbare Granula zu entdecken. Da aber solche Körnchen nicht in allen Lymphozyten vorkommen, sah sich Pappenheim genötigt, auch die neuen Bürger, welche er als „lymphoide Leukozyten" oder „Lymphoidozyten" bezeichnen möchte, in seinem System unterzubringen. Auf besondere Schwierigkeiten stößt er dabei nicht; sie kommen einesteils zwischen die Stammzelle (den großen Lymphozyten) und den großen mononukleären Leukozyten als intermediäre Entwicklungsstufe zu stehen, andernteils in gleicher Weise zwischen den kleinen Lymphozyten und die weiteren Produkte seiner Alterung. Sie hätten sonach allesamt in dem alten Gebäude Platz; aber schon trägt sich Pappenheim mit dem Gedanken einer Umgestaltung unter Vermehrung der Seitenlinien auf sechs. Da er dies aber bisher nur „unter dem Strich" getan hat, dürfen wir wohl das alte Bausystem noch als das offizielle betrachten und wollen auf eine Wiedergabe des neuen Planes verzichten.

Pappenheim hatte die nicht genug zu schätzende Absicht, der schon im Jahre 1900, als er sein System aufbaute, bestehenden heillosen „Verwirrung in der Namengebung zu steuern und die Begriffe ‚Lymphozyten', ‚Leukozyten' und ‚Myelozyten' so festzulegen, daß in Zukunft eine bessere Verständigung herbeigeführt werden kann". Ob er aber in der ihm eigenen habituellen Kompliziertheit den richtigen Weg zu einer Verständigung gefunden hat, will ich dahingestellt sein lassen.

Auch Pappenheims System ist, wie wohl vorauszusehen war, nicht ohne Anfechtung geblieben.

Zunächst trat Nägeli**) mit einer schon durch ihre Klar- **Neueste Literatur: 1. Nägeli, Myeloblasten.**

*) Virchows Archiv. Bd. 167, 1902.

**) Deutsche medizinische Wochenschrift. 1900, Nr. 18.

heit hervorstechenden Arbeit auf den Plan. Auch er findet gleich Pappenheim, daß die einkernigen ungranulierten Elemente im Marke eine große Rolle spielen, und unterscheidet drei verschiedene Größen, welche aber fließend ineinander übergehen, und von welchen die kleinsten und zugleich zahlreichsten an Größe und Form ungefähr den Lymphozyten gleichen, während die größten in ihrer Form bis auf die fehlende Granulation durchaus den Myelozyten entsprechen. Es ist ihm auch nicht zweifelhaft, daß zwischen dieser letzteren Art und den typischen granulierten Myelozyten Übergänge vorkommen. Während aber Pappenheim alle diese Zellen als Lymphozyten anspricht, kommt Nägeli auf Grund seiner an normalem und pathologischem menschlichen Knochenmarke angestellten Untersuchungen zu der entgegengesetzten Anschauung. Er hält die körnchenfreien Markzellen für verschieden von den Lymphozyten, für spezifische Knochenmarkselemente, und schlägt für sie den Namen „Myeloblasten" vor.

Er stützt sich dabei zunächst auf Unterschiede in der Form, der Größe und Chromatinstruktur des Kernes, ferner auf das Fehlen der Kernkörperchen bei den Myeloblasten, während diese bei den Lymphozyten, namentlich den größeren, immer zu sehen seien, und endlich auf Differenzen in der Färbung des Protoplasmas mit Methylenblau, mit welchem Farbstoffe sich der Zellleib der Lymphozyten sehr stark anfärbt, indes die Myeloblasten nur eine ganz zarte Methylenblaufärbung des Protoplasmas annehmen. Endlich scheint es, daß die Myeloblasten die Brandenburgsche Guajakreaktion geben, was die Lymphozyten ebenfalls niemals tun.

Noch mehr aber bewegen ihn biologische Momente und klinische Erfahrungen, für die Trennung der Lymphozyten von den Myeloblasten einzustehen. Auch Nägeli nimmt an, daß sich die granulierten Knochenmarkselemente aus den ungranulierten, also den Myeloblasten, entwickeln. Kommt den Myeloblasten aber eine solche Entwicklungsfähigkeit zu, „dann müssen sie durchaus andere Elemente sein als die Lymphozyten, für welche derartige Potenzen absolut abzulehnen sind". Unter pathologischen Verhältnissen finden sich weiters die Myeloblasten im Marke oft ungeheuer vermehrt; trotzdem tritt gar keine Vermehrung der Lymphozyten im Blute auf, die Funktion des Lymphapparates ist also ungestört; andererseits läßt sich das Über-

treten von Myeloblasten ins Blut, insbesondere der größeren Formen, bei jeder myeloiden Leukämie nachweisen, namentlich in den späteren Stadien, wo sie geradezu die Mehrzahl der weißen Blutkörperchen ausmachen können. Auch die kleineren Formen gelangen bei Leukämie, Typhus und perniziöser Anämie ins Blut, sind aber schwer zu kontrollieren.

2. Michaëlis und Wolff. Indifferente Lymphoidzellen.

Ein Jahr später kamen Michaëlis und Wolff*) zu dem Schlusse, daß der weite Begriff der Lymphozyten, wie ihn Pappenheim gebraucht wissen wollte, eine Teilung erfahren müsse. Jene Zellen, welche den morphologischen Charakter des Lymphozyten tragen, aber sich noch als differenzierungsfähig erweisen, sind als „indifferente Lymphoidzellen" von den einer Differenzierung nicht mehr fähigen eigentlichen „Lymphozyten" zu trennen.

Wolff**) hat sodann dieses System ausgebaut und kommt zu folgenden Schlüssen: Es ist zwar richtig, daß Ehrlichs prinzipielle Scheidung zwischen Lymphozyten und Granulozyten nicht mehr aufrecht zu erhalten ist, denn es finden sich Granula in den Lymphozyten (siehe oben). Diese letzteren Zellen besitzen überdies auch einen zwar geringen, aber zweifellos vorhandenen Grad von amöboider Beweglichkeit***), und es ist sogar sehr wahrscheinlich, daß auch eine aktive Lymphozytose besteht. Doch sind die indifferenten Lymphoidzellen des Knochenmarkes in den meisten ihrer Entwicklungsstadien von den Lymphozyten morphologisch zu trennen. Die Methylgrün-Pyroninmethode ist zum Identitätsnachweis von Zellen nicht zu brauchen. Die blutbildenden Organe „gehen beim Menschen im postembryonalen Leben eine Arbeitsteilung ein, derart, daß das Knochenmark Granulozyten, die Lymphdrüsen Lymphozyten liefern, während die Milz neben der Bildung großer mononukleärer Leukozyten hauptsächlich Phagozytose ausübt. Doch finden sich an allen diesen Stellen indifferente Lymphoidzellen, welche, wenn die Arbeitsteilung versagt, vikariierend eintreten, da sie ihre Differenzierungsfähigkeit bewahrt haben." Es kann also eine myeloide Umwandlung sämtlicher blutbereitenden Organe, insbesondere der Milz,

*) Deutsche medizinische Wochenschrift. 1901, Nr. 38.

**) Deutsche Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. 45, 1902.

***) Wolff: Deutsche Ärztezeitung. 1901, Nr. 18 und Berliner klinische Wochenschrift. 1901, Nr. 52, sowie Hirschfeld: Berliner klinische Wochenschrift. 1901, Nr. 40.

von welcher das wiederholt beobachtet wurde, auch bei nicht leukämischen Erkrankungen vorkommen.

Schema der Blutbildung nach Wolff.

Auch W o l f f stellt sonach ein Schema der Blutbildung auf, das sich durch seine Einfachheit bereits vorteilhaft von jenem P a p p e n h e i m s unterscheidet. Es lautet:

Indifferente Lymphoidzelle

Große Lymphozyten Kleine Lymphozyten	Erythrozytenbildung (Pappenheim)	**Myelozyten** Ehrlichs: *a)* mit basophiler Granulation *b)* mit neutrophiler Granulation | **Multinukleäre Leukozyten:** *a)* mit basophiler Granulation *b)* mit neutrophiler Granulation | **Pseudolymphozyten**

P a p p e n h e i m reagiert sofort auf diese Anschauungen W o l f f s und erklärt die Lymphoidzellen nicht für die gemeinsame Stammzelle der Granulozyten und eventuell auch der Lymphozyten, sondern für die erste Entwicklungsstufe des großen Lymphozyten gegen den großen mononukleären Leukozyten zu; er identifiziert sie also mit den früher erwähnten „lymphoiden Leukozyten" und bleibt bei seinen Anschauungen.

3. Grawitz, Stammzelle.

E. G r a w i t z *) schließt sich in allen wesentlichen Punkten an P a p p e n h e i m an. Auch er läßt alle Leukozyten aus einer großen, sehr blaß färbbaren ungranulierten „S t a m m z e l l e" hervorgehen, findet im Marke eine große Zahl lymphoider Elemente und insbesondere zahlreiche Übergangsformen, welche noch das diffus basophile Protoplasma erkennen lassen, aber bereits in kleinen Gruppen oder verstreut die ersten Granula aufweisen. Er sieht nicht den geringsten Grund, eine lymphoide Zellgruppe einer myeloiden entgegenzustellen, und findet vielmehr, daß gerade durch diese Trennung die größten Verwirrungen in der Literatur entstanden sind. Er läßt in seinem Leukozytenstammbaum von einer großen einkernigen homogenen Stammzelle zu-

*) Klinische Pathologie des Blutes. Berlin, 1902.

nächst basophile homogene einkernige Zellen hervorgehen, welche Übergänge zu den neutrophilen Myelozyten aufweisen; aus diesen entwickeln sich die polynukleären Neutrophilen. Neutrophile Myelozyten können auch auf dem Wege durch eine ungranulierte einkernige Zelle mit neutrophilem Protoplasma aus der Stammzelle direkt hervorgehen. Aus den homogenen basophilen einkernigen Zellen entstehen aber auch direkt Erythroblasten und Erythrozyten, ebenso wie kleine basophile einkernige lymphozytenartige Zellen, und endlich gehen aus ihnen durch Vermittlung einer undeutlich basophil gekörnten Zwischenstufe die einkernigen und mehrkernigen eosinophilen Zellen hervor.

Schließlich hat aber auch in den letzten Jahren Ehrlichs Lehre von der Spezifität der einzelnen Zellarten ihre Vertreter gefunden.

Schwarz*) berichtet über Untersuchungen, in deren Verlauf er zu dem Schlusse gelangt ist, daß die Proliferation der Knochenmarkselemente auf dem Wege der Mitose vor sich gehe, daß daran jede Zellart in entsprechendem Verhältnis teilnehme, und daß weiter „jede Zellart des Markes ihre eigene Generation hat". Es gibt im Knochenmark kein Nacheinander von Zellstadien, sondern nur ein Nebeneinander von Zellarten. Eine Reifung von Lymphozyten zu granulierten Zellen besteht ebensowenig als eine Reifung von ε-Zellen zu α-Zellen. Es gilt das gleiche Gesetz wie überall im erwachsenen Organismus: Wo Zellen regeneriert werden, stammen sie immer von Zellen gleicher Art. Die Zelldifferenzierung ist eine Funktion der embryonalen Periode, die isogene Regeneration die Eigentümlichkeit des reifen Organismus. Daher haben die Arbeiten, „welche nach dem Verhalten der embryonalen Blutbildung die Regeneration des Blutes beim Erwachsenen bestimmen wollen, keine Beweiskraft gegen die Spezietät der Knochenmarkszellen. Man darf ohne zwingenden Beweis (und der ist noch nicht geliefert) den embryonalen Entwicklungsmodus nicht in die Zytogenese des Erwachsenen hineintragen". 4. Schwarz.

In allerletzter Zeit stellt sich auch Banti**) auf den Standpunkt einer durchgängigen und völligen Trennung des lymphoiden und myeloiden Apparates. Die Knochenmarkselemente leitet er von einer „hyalinen Markzelle" ab, aus welcher einesteils die 5. Banti.

*) Wiener klinische Wochenschrift. 1901, Nr. 42.

**) Archivio di Fisiologia. Genua. 1904.

Riesenzellen, andererseits die großen mononukleären Leukozyten und Übergangsformen und endlich drittens die α-, γ- und ε-Myelozyten und durch deren Vermittlung die entsprechend granulierten polynukleären Zellen hervorgehen.

Zusammenfassung der Forschungsergebnisse.

Ich habe Ihnen nun, meine Herren, in großen Zügen die in der modernen Literatur niedergelegten Anschauungen über Entwicklung und Zusammenhang der Leukozyten wiedergegeben. Sie werden wohl mit mir in der Meinung übereinstimmen müssen, daß diese Anschauungen nichts weniger als geklärt sind, ja es macht den Eindruck, daß das Chaos größer sei denn vorher, als Ehrlichs Auffassung alle anderen Meinungen mit dem Gewichte der Autorität ihres Schöpfers niederdrückte.

Immerhin sind einige Befunde mit einer so bemerkenswerten Konstanz erhoben worden, daß sie gewiß eine Bedeutung beanspruchen dürfen, wenn es auch noch nicht gelungen ist, über ihre Auffassung einig zu werden. Ich hebe von diesen Befunden hervor:

1. Die Bedeutung einkerniger ungranulierter Zellen mit basophilem Zelleib und von sehr verschiedener Größe als normale und namentlich pathologische Bestandteile des Knochenmarkes in einem weitaus höheren Maße, als man dies nach Ehrlichs Anschauungen erwarten durfte. Über ihre Bedeutung herrscht völliger Streit: Die einen reihen sie direkt in die Gruppe der Lymphozyten ein, andere trennen sie auf Grund vieler Merkmale strikte von ihnen. Darin aber sind alle einig, daß aus diesen ungranulierten Vorstufen die einkernigen granulierten Elemente des Knochenmarkes (Myelozyten) zum mindesten im embryonalen Leben und auch später wenigstens unter pathologischen Verhältnissen hervorgehen.

2. Den Umstand, daß die seit Ehrlich als neutrophil bezeichneten feinkörnigen Granula der Leukozyten unter verschiedenen Verhältnissen, vielleicht im Zusammenhange mit Reifung und Alterung, ein verschiedenes mikrochemisches Verhalten zeigen, indem sie in den reiferen Zellformen zumeist eine überwiegende Affinität zu sauren, in den jugendlichen oder unreifen Zellformen gewöhnlich eine überwiegend basophile Komponente aufweisen.

Wert klinisch-hämatologischer Beobachtungen.

Im Laufe meiner bisher etwa achtjährigen klinisch-hämatologischen Arbeiten und Studien hatte ich naturgemäß auch viel-

fach Gelegenheit, mit diesen Fragen in Berührung zu kommen und mir über manche der hier angeregten Punkte meine eigene Meinung zu bilden. Ich bin dabei als Kliniker von ganz anderen Bahnen ausgegangen, als beinahe alle Forscher, welche soeben zu Worte gekommen sind. Für mich leitet sich alles Erkennen aus dem Vergleiche pathologischer Blutbefunde beim erwachsenen Menschen mit den ihnen zugrunde liegenden krankhaften Veränderungen, insbesondere der blutbereitenden Organe her und aus dem Vergleiche dieser Befunde mit den Zuständen der Norm. Ich bin — gegen meinen Willen — bisher gezwungen gewesen, reiner Kliniker und rein „peripherer" Hämatolog zu bleiben; und so unlieb mir das in mancher anderen Hinsicht ist, so scheint es mir doch für die Auffassung gerade der hier zu beantwortenden Fragen von großem Nutzen zu sein. Es unterliegt keinem Zweifel, daß man auf dem Wege der klinisch-hämatologischen Beobachtung allein die Frage nicht lösen wird; aber ebensowenig kann man das vom embryologisch-anatomischen Standpunkte aus: eine Verbindung beider Wege tut not und kann allein zum Ziele führen.

Bisher ist geradezu ausschließlich einseitig anatomisch gearbeitet worden, und die kleinen klinisch-hämatologischen Ansätze sind entweder vereinzelt geblieben und verkümmert oder mißlungen. Dagegen kann man feststellen, daß die anatomisch histologischen Befunde eine weitgehende Klärung durch diese Arbeiten erfahren haben; die Grundlagen aller Anschauungen stimmen ja bis auf wenige Punkte überein, nur die Deutung ist strittig. Und gerade in dieser Hinsicht glaube ich, wenn ich meine rein klinisch-hämatologischen Erfahrungen mit den anatomischen Arbeiten der vorbesprochenen Autoren zusammenhalte und gegeneinander abwäge, doch imstande zu sein, zur Klärung unserer Frage einiges beizutragen. Ich gehe nicht mit so viel Hoffnungen ans Werk wie Pappenheim, der vermeinte, durch seine Namengebung eine Einigung erzielen zu können. Er ist gescheitert, allerdings nicht ohne eigene Schuld, da er ohne genügende Begründung die alten Namen in durchaus verändertem Sinne gebrauchen wollte, und an Stelle eines durchaus wohlbegründeten klaren Grundgedankens ein auf hypothetischer Basis ruhendes kompliziertes Gebäude setzte.

Ich werde mich in bescheideneren Grenzen halten und keine

weiteren Schlüsse ziehen als jene, welche sich mir aus der Betrachtung der pathologischen Histologie der Leukozyten im peripheren Blute und aus dem Vergleiche dieser Befunde mit den sicherstehenden Ergebnissen der Histologie und Pathologie des Knochenmarkes und der blutbereitenden Organe überhaupt in nüchterner und logischer Folgerung ergeben.

Zuerst muß ich also eine Besprechung der pathologischen Leukozytenformen und ihres Zusammenhanges, wie er sich aus der Betrachtung pathologischer Blutbilder ergibt, vorausschicken. Pappenheim selbst sagt an einer Stelle, daß das beste Objekt zum Studium der Histologie des Knochenmarkes das Blut der myeloiden Leukämie darstelle, denn es seien alle zelligen Elemente, welche sich unter solchen Umständen im Marke finden, in durchaus entsprechender Weise im strömenden Blute vertreten. Auch ich habe mir diese Überzeugung gebildet und muß meiner Meinung weiters dahin Ausdruck geben, daß dann jedenfalls das Studium des Blutes bei dieser Erkrankung mindestens ebensoviel, wo nicht mehr zur Klärung der uns beschäftigenden Fragen beitragen kann, wie das Studium des Markes selbst, da es bisher niemandem gelungen ist, so klare und fein differenzierende Detailbilder aus dem Marke zu erhalten, wie sie uns das leukämische Blut von selbst ohne jede Schwierigkeit bietet.

Ich gehe also im folgenden von der Schilderung der pathologischen Leukozytenformen aus, wie sie sich uns im Blute der myeloiden Leukämie bieten. Ich werde hernach nur weniges nachzutragen haben, indem ich zur ergänzenden Betrachtung der lymphozytären Elemente auch noch das Blut der lymphoiden Leukämieformen heranziehe.

Allgemeines über normale und pathologische Leukozytenarten.

Fixe Gewebselemente der blutbereitenden Organe.

Es braucht zunächst kaum ausdrücklich festgestellt zu werden, daß diejenigen Zellen, welche wir im pathologischen Blute finden, in erster Linie nicht an sich pathologische Produkte sind. Das normale Blut stellt eine Mischung reifer und für bestimmte Funktionen besonders differenzierter zelliger Elemente dar, welche in bestimmten Organen, den blutbereitenden Geweben, aus den dort seßhaften fixen Gewebselementen (Parenchymzellen Pappenheims) gebildet werden und in diesen Geweben selbst

ihre volle Ausreifung durchmachen. Als blutbereitende Gewebe haben wir beim erwachsenen Menschen vor allem das Knochenmark, in zweiter Linie das lymphoide Gewebe insbesondere der Lymphdrüsen, und endlich drittens in einem noch strittigen, aber unter normalen Verhältnissen jedenfalls nicht sehr hervorragenden Maße die Milz zu betrachten.

Wirkt nun irgendein pathologischer Zustand auf eines oder auf alle diese blutbereitenden Organe im Sinne eines Reizes ein, so werden allerdings vermöge der auch hier wie anderwärts immer vorhandenen Reservekräfte und Reservevorräte zunächst nur fertige und völlig ausgebildete Elemente in großer Zahl in das kreisende Blut geworfen werden. Die unmittelbare weitere Folge aber wird sein, daß die blutbereitenden Parenchyme selbst in den Zustand erhöhter Tätigkeit versetzt, zu rascherer Wucherung angeregt werden. Gerade in dieser Hinsicht zeigt ja insbesondere das Knochenmark als das wesentlichste hier in Betracht kommende Gewebe einen ganz enormen Grad von Regenerationsfähigkeit. Unter diesen Verhältnissen wird es uns dann auch begreiflich erscheinen, wenn neben den völlig ausgereiften Zellen in mehr oder minder reichlicher Menge auch Elemente im Blute erscheinen, welche sonst nicht für die periphere Zirkulation bestimmt sind, sondern eben als fixe Parenchymzellen seßhaft im Gewebe bleiben.

Pathologische Ausschwemmung solcher in das Blut.

Diese pathologischerweise in das kreisende Blut hinausgeschleuderten, sonst fixen Gewebszellen der blutbereitenden Organe sind in allererster Linie und in überwiegendster Zahl jene Gebilde, welche wir als „pathologische Leukozytenformen“ zu bezeichnen pflegen. Pathologisch ist an ihnen also zunächst nur ihre Anwesenheit im kreisenden Blute. Allerdings ist damit nicht ausgeschlossen, daß sie unter besonderen Verhältnissen auch Eigenschaften gewinnen, welche ihnen im normalen Markgewebe nicht zukommen, wie die folgende Betrachtung uns lehren mag.

An und für sich ist gewiß die Blutbildung beim erwachsenen Menschen eine wenig lebhafte, da es sich nur um den Ersatz der physiologisch oder pathologisch abgenützten Elemente handelt. Wir sehen auch dementsprechend, daß das Markgewebe, von dem wir zunächst allein sprechen wollen, sich namentlich im höheren Alter auf einen kleinen Teil der Markräume zurück-

gezogen hat, und es macht den Eindruck, daß selbst hier die Vorgänge der Zellneubildung keine besonders lebhaften seien.

Myelozyten. Bezüglich der normalen Leukozytenbildung ist nun vorerst seit Ehrlichs diesbezüglichen Aufstellungen von allen Seiten als durchaus feststehend anerkannt, daß die polymorphkernigen granulierten Elemente des peripheren Blutes von einkernigen fixen Gewebselementen des Markes durch (indirekte) Teilung abstammen, die ihrerseits bereits dieselbe eigenartige granuläre Differenzierung des Protoplasmas in mehr oder minder vollkommener Ausbildung tragen, welche die reifen Zellen zu kennzeichnen bestimmt ist. Ehrlich hat diese Entwicklungsart zunächst für die spezifischen leukozytären Elemente des menschlichen Blutes, für die Neutrophilen, dargetan und hat die einkernigen, ebenfalls bereits feingranulierten Stammzellen der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten als Myelozyten kurzweg bezeichnet. Später ist man jedoch zu der Feststellung gekommen (Engel), daß ein ganz gleicher Vorgang bei den eosinophil granulierten Zellen zu recht bestehe, und in hohem Grade wahrscheinlich ist eine volle Analogie auch für die basophil granulierten Mastzellen geworden. Man hat daher den Namen Myelozyt auch auf diese im Knochenmarke seßhaften Mutterzellen der eosinophil und basophil granulierten Leukozyten übertragen und mußte demnach zur Kennzeichnung ihrer Art nunmehr dem Worte „Myelozyt" die adjektive Bestimmung seiner Granulation beifügen, so daß die Worte: neutrophiler und eosinophiler Myelozyt zunächst allgemein in Gebrauch kamen. Von basophilen, d. h. basophil granulierten Myelozyten pflegt man im allgemeinen nicht zu sprechen; es kommt dies wohl daher, weil die Mastzellen im normalen und pathologischen Blute mit einziger Ausnahme der myeloiden Leukämie eine so geringe Rolle spielen, daß man sich nicht gedrungen fühlt, für ihre Stammformen im Marke einen eigenen Namen zu gebrauchen. Immerhin kommt ihnen wohl das gleiche Recht zu wie den anderen Zellarten, vorausgesetzt, daß die Verhältnisse wirklich die gleichen sind; davon wird später zu sprechen sein.

Wir haben also im normalen Marke vor allem neutrophile, eosinophile und wahrscheinlich auch basophile Myelozyten, deren Teilungsprodukte und die Ausreifungsstadien dieser zu erwarten; darüber gibt es, wie gesagt, nur eine Stimme. Vollkommen strittig ist das Weitere. Erhalten die Myelozyten ihre Art selbst in der

Weise, daß der eine Anteil ihrer Teilungsprodukte nicht zur Ausschwemmung in das periphere Blut ausreift, sondern Myelozyt bleibt, seinerseits sich wieder teilt usw.? Oder wird der Ersatz für die abgenützten granulierten fixen Gewebselemente von anderen minder weit differenzierten Zellen geschaffen, welche sich durch Umbildung ihres Protoplasmas allmählich aus einer ungranulierten Vorstufe zu granulierten Myelozyten entwickeln?

Differenzierung ungranulierter zu granulierten Leukozyten: a) im Embryonalleben,

Als absolut sicher können wir nur das eine hinstellen, daß einmal im frühen embryonalen Leben eine solche Differenzierung von ungranulierten Zellen zu granulierten Myelozyten stattfinden muß; denn im Blute der ersten provisorischen Blutbildungsperiode, welche noch nicht an die später hiezu erkorenen Organe ausschließlich gebunden ist, sondern eine Funktion sehr verschiedener Abkömmlinge des Mesenchyms darstellt, finden wir als einzige hämoglobinfreie Zelle eine einkernige ungranulierte Form, aus der sich wohl unter allen Umständen später nach Ausbildung der Markanlage die granulierten Myelozyten durch Protoplasmadifferenzierung entwickeln dürften. Ob dieser Vorgang aber auch außerhalb des embryonalen Lebens bei der normalen oder wenigstens bei pathologisch gesteigerter Funktion des Knochenmarkes statthat, das ist noch Gegenstand der Diskussion.

b) unter pathologischen Verhältnissen beim Erwachsenen.

Doch kann ich zur Rechtfertigung meines späteren Vorgehens wohl schon hier einfügen, daß meine Überzeugung mit voller Schärfe dahingeht, daß ein derartiger Vorgang der Differenzierung ungranulierter Zellen zu granulierten Myelozyten zumindest im myeloid-leukämischen Marke vorkommen muß, denn er findet sich in durchaus einwandfreier Weise im peripheren Blute bei dieser Erkrankung. Auf den Vorgang in der Norm will ich mir dermalen noch keinen Schluß erlauben.

Rückschlag in den embryonalen Zellbildungstypus.

Eine Bemerkung kann ich nicht unterdrücken: Sollte im normalen Blute des erwachsenen Menschen tatsächlich eine Bildung granulierter Zellen, Granulozyten nach Pappenheim, aus ungranulierten Vorstufen nicht stattfinden, so sind wir von vorneherein gezwungen, weil unter pathologischen Verhältnissen ein solches Vorkommnis über jeden Zweifel erhaben ist, anzunehmen, daß bei schwerer funktioneller Reizung oder bestehender eigenartiger und selbständiger Wucherung des myeloiden Gewebes ein Rückschlag in einen früheren, und zwar embryonalen Entwicklungstypus stattfinde. Wir haben einen derartigen entdifferenzierenden Rückschlag zur embryonalen Bildungsformel

bereits bei Besprechung der kernhaltigen Erythrozyten feststellen müssen, und es gewinnt schon hiedurch allein das Vorkommen analoger Umformungen der Leukozytenbildung an Wahrscheinlichkeit.

Gestützt wird eine solche Annahme auch noch in ganz besonderem Grade dadurch, daß wir unter derartigen pathologischen Verhältnissen myeloide Zellbildung nicht nur dort finden, wo sie normalerweise beim erwachsenen Menschen beobachtet wird, in den Markräumen der spongiösen Knochen. Geradezu regelmäßig sehen wir eine Umwandlung des normalerweise zu Fettmark rückgebildeten Markes der langen Röhrenknochen in lebhaft funktionierendes Myeloidmark. Nun, das ist nur ein erster, wenig weit zurückgreifender Schritt; im Kindesalter findet sich ja hier überall normalerweise noch funktionierendes Mark. Aber ohne Zweifel geht die Neuansiedlung von Myeloidgewebe bis auf jene Stätten zurück, welche nur mehr in früher embryonaler Zeit myeloide Funktion auszuüben vermögen. Es ist nicht nur eine heute jedermann geläufige Tatsache, daß sich bei der myeloiden Leukämie die Milz in einem außerordentlich hohen Grade myeloider Metaplasie befindet, daß in der Leber sich myeloide Einlagerung findet, und daß selbst die Lymphdrüsen wenigstens in späten Stadien der Erkrankung sich in demselben Sinne zu verändern vermögen: Auch bei nicht leukämischen Erkrankungen, welche eine schwere Schädigung oder funktionelle Überanstrengung des Myeloidgewebes bedeuten (z. B. Knochenmarkskarzinose, schwere Infektionen), kommt es vor allem und nicht gar so selten zu einem Wiedererwachen der für das embryonale Leben nicht mehr zweifelhaften myeloiden Funktion der Milz.

Ich mußte diese Tatsachen aus der speziellen Pathologie des blutbereitenden Markgewebes jetzt bereits vorwegnehmen, weil sie mir für das Verständnis der pathologischen Leukozytenbildung belangreich erscheinen.

Lymphoidgewebe und Lymphozyten.

Einer ebenso allgemeinen Anerkennung wie die Lehre von der Abstammung der granulierten Leukozyten des normalen Blutes des erwachsenen Menschen aus dem Knochenmarksgewebe erfreut sich auf der anderen Seite die Annahme, daß normalerweise die Lymphozyten des Blutes, wenn schon nicht völlig, so doch allermindestens zum größten Teile aus den außerhalb des Markes gelegenen lymphoiden Apparaten stammen, insbesondere aus den Lymphdrüsen. Ob auch die adenoiden Apparate der verschiedenen Schleimhäute, welche zweifellos prolife-

rierendes Lymphoidgewebe enthalten, an der Zellenlieferung für das periphere Blut teilnehmen, mag dahingestellt bleiben. Hingegen macht es den Eindruck, daß man recht tut, die Hauptherde der Lymphozytenlieferung nicht so sehr in den äußeren Lymphdrüsengruppen als insbesondere in den mesenterialen Drüsen zu suchen.

Wucherungen des Lymphoidgewebes.

Nun gibt es auch eigenartige Erkrankungen, welche sich durch eine konstante Vermehrung der lymphozytären Elemente im Blute, oft im enormsten Grade, auszeichnen, und bei welchen andererseits mit sehr wenigen Ausnahmen die außerhalb des Knochenmarkes gelegenen lymphoiden Apparate, insbesondere wiederum schon ihrer natürlichen Bedeutung nach die verschiedenen Lymphdrüsengruppen, in hohem Grade pathologisch verändert sind. Es liegt in der Natur der Sache, daß wir in diesen Erkrankungsfällen, denen eine hochgradige Wucherung lymphoiden Gewebes an den genannten und gelegentlich auch an allen nur denkbaren übrigen Stellen zugrunde liegt, die Vermehrung der lymphozytären Elemente des Blutes doch zu einem wesentlichen, wahrscheinlich zum größten Teile von diesen Erkrankungsherden außerhalb des Knochenmarkes werden herzuleiten haben. Es ist uns weiter positiv bekannt, daß in diesen Erkrankungsfällen von der Norm wesentlich abweichende lymphoide Zellformen ins Blut gelangen. Da gerade die Genese und Bedeutung dieser Zellen das strittigste Gebiet in der ganzen Frage der Leukozytenbildung darstellt, werden wir also auch den pathologischen Zellformen, welche im Blute bei diesen gemeiniglich als „lymphoide Leukämien" bezeichneten Erkrankungen vorkommen, eine erhöhte und ganz besonders sorgfältige Betrachtung zu widmen haben. Gerade aus dem Vergleiche dieser Gebilde mit den früher erwähnten, bei der myeloiden Leukämie im Blute sich vorfindenden ungranulierten einkernigen Zellen könnte es sich ergeben, ob beide Bildungen in irgend einem Zusammenhange miteinander stehen, ob dieser ein direkter Zusammenhang ist oder nicht, kurzum, ob wir berechtigt sind, überhaupt von einem „lymphoiden" und einem „myeloiden" Gewebe nebeneinander zu sprechen.

„Große Lymphozyten" (Lymphogonien).

Der normale Vorgang der Zellbildung und Zelldifferenzierung in den lymphoiden Apparaten ist ein hochgradig einfacher. Es ist durch Flemming und durch Benda sichergestellt worden, daß die öfters im Zentrum der Lymphfollikel sichtbaren heller

gefärbten Partien, welche aus blaßkernigen und etwas größeren Zellen bestehen, als Keimzentren aufzufassen sind, und daß sie die Stätten der Zellbildung im lymphoiden Apparate darstellen. Dort teilen sich nämlich die etwas größeren blaßkernigen, sogenannten großen Lymphozyten (Lymphogonien Bendas) wahrscheinlich auf dem Wege der Mitose, und aus den Produkten ihrer Teilung bilden sich durch Reifung jene Gebilde, welche wir früher als Lymphozyten des normalen Blutes kennen gelernt haben. Die „großen Lymphozyten" selbst sind fixe Gewebselemente; sie sind im Blute normalerweise nicht vorhanden. Von den pathologischen Wucherungen des lymphoiden Gewebes ist uns einwandfrei bekannt, daß z. B. die Struktur der Drüsen allmählich verwischt wird, und daß sich vielfach auch zunächst die Keimzentren vergrößern; später aber hat nicht selten die ganze Drüse ein mehr gleichmäßiges Gefüge angenommen; ihre zelligen Elemente erscheinen auch nicht mehr so klar wie im normalen Blute differenziert und entfernen sich häufig überhaupt durch eine auffällige Vergrößerung immer mehr von den normalen Befunden.

Wir dürfen es wohl von vorneherein in Analogie mit den bereits besprochenen Befunden seitens des hyperplastisch erkrankten Markgewebes als wahrscheinlich, ja geradezu als sicher bezeichnen, daß bei solchen pathologischen Wucherungszuständen des lymphoiden Gewebes nicht nur die normalen und völlig ausgereiften „Lymphozyten" ins Blut gelangen werden, sondern daß zunächst auch die sonst fixen Gewebselemente, also die „großen Lymphozyten" oder Lymphogonien, werden der Ausschwemmung verfallen können und müssen, soferne überhaupt ein Übertritt von Zellen aus dem erkrankten Gewebe in irgend erheblichem Maße stattfindet. So wird es auch unvermeidlich sein, daß schließlich nicht nur die an sich normal ausgestalteten großen Lymphozyten ins Blut gelangen, sondern auch die durch die pathologische Wucherung veränderten Formen derselben — und gerade diese Zellformen dürfen wohl für die Klärung der Frage von dem Zusammenhange oder der prinzipiellen Verschiedenartigkeit sämtlicher ungranulierten Zellarten des Blutes und der blutbereitenden Gewebe ebensowohl, als für die Entscheidung der Frage, ob granulierte und ungranulierte Elemente miteinander zusammenhängen, eine besonders hohe Bedeutung für sich in Anspruch nehmen.

---

13. Vorlesung.

(Die pathologischen Leukozytenarten des Blutes.)

Die größte Bedeutung kommt wie im normalen Blute so auch unter pathologischen Verhältnissen im allgemeinen den Zellen mit neutrophiler Granulation zu.

Die pathologischen Zellarten mit neutrophiler Granulation

zeigen verschiedene morphologische Charaktere.

Abnorme Größe polymorphkerniger neutrophiler Leukozyten.

Zunächst kann es sein, daß bei unveränderter Kernform und im wesentlichen bei unveränderter Granulation die Größe der Zelle eine ungewöhnliche geworden ist. Es gibt vor allem förmliche „polymorphkernige neutrophile Riesenzellen", die aber nicht etwa Riesenzellen in des Wortes gewöhnlicher Bedeutung darstellen, sondern nur ganz ungewöhnlich vergrößerte, sonst sehr schön ausgebildete Exemplare durchaus typischer polymorphkerniger neutrophiler Zellen. Es macht oft förmlich den Eindruck, als ob zwei oder drei Zellen miteinander verschmolzen wären: So bedeutend ist ihre Größe und so sehr hat auch ihr Kern an Masse zugenommen. Er ist aber dabei nicht plumper geworden, sondern äußerst schlank und vielgestaltig, wie er nicht schöner in einer normalen Zelle zu sein vermöchte. Ja, er zeichnet sich vielfach durch einen ganz besonderen Chromatinreichtum aus, was man am schönsten im Leukozytenzählpräparate und bei Hämatoxylin-Eosinfärbung auch im Trockenpräparate wahrnehmen kann, während bei Triazid- und Eosin-Methylenblaufärbung dieser Chromatinreichtum nicht sichtlich zum Ausdrucke kommt. Öfters ist der Kern in diesen Zellen wirklich fragmentiert. Auch der Zelleib zeichnet sich genau so wie der Kern durch lebhafte Farbenreaktion aus: Bei Triazidfärbung usw. erscheinen die Granula lebhaft gefärbt, ohne daß in ihrem Farbentone meines Erinnerns eine Abweichung von

dem gewöhnlichen Verhalten festzustellen wäre; bei Hämatoxylin-Eosin erscheint das Protoplasma diffus besonders lebhaft rot. Es ergeben sich also weder Anhaltspunkte für eine besondere Jugendlichkeit der Zelle, noch auch für entwickelte „senile Degeneration"; es sind wohl einfach monstra per excessum, welche bei allen möglichen lebhaften Reizzuständen des Markes gelegentlich einmal vorkommen, manchmal sogar in recht beträchtlicher Zahl; so z. B. bei länger dauernder Leukozytose, bei perniziöser Anämie, bei myeloider Leukämie usw. Eine diagnostische oder sonstige Bedeutung kommt ihnen also nicht zu.

Neutrophile Zwergzellen.

Auch die Gegenstücke zu diesen „Riesen" kommen manchmal vor und werden konsequentermaßen als „neutrophile Zwergkörperchen" bezeichnet. Abgesehen von ihrer auffälligen Kleinheit — sie entwickeln bei polymorpher Kernfigur im Durchschnitt den Erythrozytendurchmesser — kommt ihnen weder morphologisch eine Sonderstellung, noch pathologisch eine Bedeutung zu. Sie finden sich am häufigsten bei myeloider Leukämie. Nicht zu verwechseln sind sie mit den gelegentlich einmal speziell bei starken Leukozytosen und bei chronischer oder — wie ich das einmal in besonderer Schönheit zu sehen Gelegenheit hatte — bei akuter myeloider Leukämie nicht selten zu beobachtenden Protoplasmaabschnürungen neutrophiler Zellen. Diese haben als kernlose Gebilde keinen selbständigen Zellcharakter mehr und ermangeln ebenfalls einer weiteren Bedeutung. Vielleicht hat man in ihrem häufigen Vorkommen den Ausdruck besonders lebhafter amöboider Beweglichkeit, vielleicht auch nur jenen besonderer Labilität des Zelleibes zu sehen.

Abnormitäten der Granulation:

Mehr Bedeutung kommt schon meines Erachtens bei erhaltener polymorpher Kernfigur den Abnormitäten der Granulation zu, welche sich wiederum in zweierlei Richtung bewegen können: einerseits im Sinne einer abnormen Kleinheit oder Größe, andererseits im Sinne einer ungewöhnlichen Farbenaffinität.

a) in der Größe und Deutlichkeit,

Die Größe der neutrophilen Körnung schwankt schon unter normalen Verhältnissen innerhalb gewisser, übrigens ziemlich enger Grenzen. Niemals habe ich einen Exzeß in dem Grade beobachten können, daß über die Feinkörnigkeit der Granulation ein berechtigter Zweifel hätte obwalten können. Daß die Granula in stärker plattgedrückten Zellen zumeist deutlicher erscheinen, habe ich wohl schon bei Besprechung des Nativ-

präparates erwähnt; es ist das einfach der Ausdruck der besseren Abgrenzung gegeneinander. Viel mehr von Belang scheint mir die Dichtigkeit der Granulation zu sein, weil ich gesehen habe, daß bei Ungeübten hiedurch öfters Irrungen verschuldet wurden. Zellen mit besonders dicht stehender und, wie es auch den Eindruck macht, mit besonders lebhaft gefärbter Granulation werden nämlich vom Anfänger nicht selten, namentlich dann, wenn eine andere Zelle mit spärlicherer und matter gefärbter Granulation daneben steht, für eosinophile Zellen angesehen, einfach wegen des in die Augen fallenden Unterschiedes in der Färbungsstärke. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß diese gewöhnlich auch etwas kleineren farbenfreudigen Zellen jugendlichere Individuen darstellen, während die größeren Zellformen mit matter gefärbtem Kerne und schwächer gefärbter spärlicherer Granulation wohl dem physiologischen Abbau nahestehende alternde Zellformen bedeuten. Diese letzterwähnten Dinge sind gewiß an sich nicht einmal pathologische Vorgänge, sondern physiologische Befunde, die nur in abnorm zellreichem Blute leichter und lebhafter hervortreten.

Besonders bemerkenswert erscheint mir in schwer pathologischen Blutarten das Vorkommen von polymorphkernigen Zellen mit äußerst mangelhafter oder völlig fehlender Granulation, wie man das bei schweren Erschöpfungszuständen des Myeloidgewebes, z. B. häufig in vorgeschrittenen Fällen myeloider Leukämie, gelegentlich aber auch bei anderen schweren Schädigungen des Markes, namentlich auch bei perniziösen Anämien beobachten kann. Es handelt sich hier gewiß nicht um Kunstprodukte, auch nicht um mangelhafte Färbung; davon kann man sich leicht überzeugen durch die vollkommen tadellose Färbung von Nachbarzellen und auch durch das tadellose Hervortreten der Kern- und der diffusen Protoplasmafärbung. Die letztere ist sogar in diesen Fällen oft besonders lebhaft; es macht den Eindruck, als ob die Granulationssubstanz bereits vorgebildet im Zelleibe vorhanden, aber nicht zur Differenzierung gekommen sei, da dieser eine ungewöhnlich lebhafte Färbung in annähernd neutralem Farbentone aufweist, die doch sonst dem Zelleibe der Neutrophilen in diesem Ausmaße nicht zukommt. Bei besonders scharfer Einstellung und besonders tadelloser Färbung gelingt es ja auch manchmal, feinste Stäubchen von Granulation in diesen Zellen zu finden; andere

aber lassen auch die Spuren nicht erkennen. Besonders schön kann man die verschiedene Entwicklung der feinkörnigen Granulation in wohlgelungenen Nativpräparaten derartiger Blutsorten beobachten. Ich sehe in dem gehäufteren Vorkommen derartiger Gebilde — Färbungsmängel müssen natürlich ausgeschlossen sein und lassen sich ja leicht ausschließen — ein prognostisch wenig günstiges Symptom, welches für einen Erschöpfungszustand des erkrankten Markgewebes spricht.

b) in der Farbenaffinität.

Dann kommen, in praktischer Hinsicht wenig, in theoretischer aber recht bedeutungsvoll, ungewöhnliche färberische Affinitäten der feinkörnigen neutrophilen Granulation zur Beobachtung.

Ich wiederhole hier nochmals und betone es nachdrücklichst, daß die ausgereifte, durchaus normale neutrophile Granulation eine überwiegende Affinität zu sauren Farbstoffen hat, die jederzeit zum Ausdrucke kommt, wenn man zweizeitig färbt, selbst dann, wenn man nach dem sauren Farbstoffe ein fast neutrales Farbengemisch zur Nachfärbung verwendet, wie es bei der Methode nach v. Müllern geschieht. Und auch bei der simultanen Färbung z. B. mit dem Farbstoffe von Jenner oder May-Grünwald pflegt das Rot in der Färbung der neutrophilen Granula deutlich zu überwiegen, so wie bei der Triazidfärbung der Fuchsinton. Ich habe ein besonders schönes Präparat normalen Blutes nach v. Müllern gefärbt als Demonstrationsobjekt für meine hämatologischen Kurse; und ich glaube, es ist mir noch kein Kurs vorgekommen, in welchem nicht einer oder alle zunächst hereingefallen sind, indem sie die neutrophilen Zellen als eosinophile diagnostizierten, so rein rot und schön gefärbt treten die Granula hervor. Erst wenn ich eine wirkliche Eosinophile einstelle, ist der Bann des Zweifels mit einem Male gebrochen — „ah, das ist freilich etwas ganz anderes!" — In solcher Färbung kann nur jener etwas Abnormes finden, der entweder für gewöhnlich die Augen nicht offen hat, oder aber noch nie ein anständig gefärbtes Eosin-Methylenblaupräparat zu sehen Gelegenheit hatte. Sehr fest ist die Bindung des Eosins allerdings in den neutrophilen Granulationen nicht, und reines Methylenblau entzieht ihnen bei der Nachbehandlung gern wenigstens den größeren Teil des Farbstoffes, weil es offenbar selbst eine wesentlich höhere Affinität zum Eosin hat als die Substanz der neutrophilen Granulation. Auch wird die Distink-

tion der Färbung jedesmal durch Hämatoxylinbehandlung, und zwar, wie Pappenheim hervorhebt, durch deren Alaungehalt, aufgehoben, indem jetzt das Zellprotoplasma der Neutrophilen diffus rötlich gefärbt erscheint.

Das Verhalten bei gelungener Eosin-Methylenblaufärbung ist so normal, daß man Abweichungen davon an reifen polymorphkernigen Zellen gar nicht beobachten kann. Wohl aber gibt es Nuancierungen bei Färbungen nach Romanowsky, welche darauf hinweisen, daß eine ungewöhnlich starke basophile Komponente in der neutrophilen Granulation einzelner Zellen enthalten ist. Während nämlich für gewöhnlich die Granula schwach und matt dunkelrötlich gefärbt erscheinen, treten andere Granula lebhafter und in violetter Tönung hervor. Färbt man derartige Präparate bei Alkoholfixation oder noch besser bei Hitzefixation einfach mit Methylenblau, so kann man dann sehen, daß in einzelnen polymorphkernigen Zellen die feinkörnige Granulation deutliche Spuren von basischem Farbstoff aufgenommen hat, während sich die übrigen Zellen ziemlich vollständig ablehnend verhielten. Hiedurch läßt sich eine stärkere basophile Komponente der Granulation in den erwähnten Zellen ohneweiters sicherstellen. Ich komme darauf bei Besprechung der Myelozyten, welche diese Eigenschaft in noch viel höherem Grade zeigen, nochmals zurück und bemerke nur einstweilen, daß man durch starke Hitzefixation die Basophilie dieser Elemente noch zu erhöhen vermag.

Trotz dieses differenten Verhaltens in bezug auf Farbenelektion liegt nicht der leiseste Grund vor, diese Granula anders aufzufassen und zu benennen. Es ist immer die eine, feinkörnige und schwach lichtbrechende Granulation, welche nur in verschiedenen Entwicklungs- oder Funktionsstadien gegenüber Anilinfarben etwas different reagiert. Ich sehe in dem rein physikalischen Charakter der Körnung mit ein wesentliches und unerläßliches Kennzeichen der als neutrophil bezeichneten, gelegentlich aber in ihrer Farbenaffinität ziemlich beträchtlich schwankenden Granulation. Physikalischer Charakter und mikrochemische Reaktion gemeinsam kennzeichnen unsere Körnung unter allen Umständen in genügender Schärfe.

Die wesentlichste Abweichung vom normalen neutrophilen Zelltypus stellt jedoch im kreisenden Blute dar

der neutrophile Myelozyt (I).

Nach der bereits oben in nuce gegebenen Definition verstehen wir morphologisch unter einem Myelozyten ganz allgemein eine einkernige granulierte leukozytäre Zelle, unter einem neutrophilen Myelozyten also einfach eine einkernige, d. h. einfachkernige Zelle mit neutrophiler Granulation ihres Protoplasmas. Halten Sie sich strenge an diese klare Definition, dann werden Sie wissen, was Sie als Myelozyt zu bezeichnen haben, werden niemandem unverständlich werden, und werden mit keinem vernünftigen Hämatologen in Konflikt geraten. Die Größe des Kernes in absolutem Maße wie in ihrem Verhältnisse zur Größe des Zelleibes wechselt beträchtlich, geradeso wie die Größe der Zelle überhaupt; auch der Chromatingehalt ist ein verschiedener; das alles aber sind Dinge, welche für die praktische Beurteilung von sekundärer Bedeutung sind. Sie können uns vielleicht hie und da nähere Auskünfte über die zytogenetische Stellung der Zelle geben, sind aber für die Beurteilung, ob Myelozyt oder nicht, ganz ohne Belang.

Myelozyten-Mutterzellen und -Tochterzellen.

Es dürfte kaum mehr zweifelhaft sein, daß im Markgewebe zwei Generationen von Myelozyten nebeneinander vorhanden sind, welche im gegenseitigen Verhältnis von Mutter- und Tochterzelle stehen, d. h. die einen sind Zellen, welche sich noch nicht geteilt haben, die anderen sind Produkte der Teilung einer solchen Zelle der ersteren Art. Es wird auch nicht gar zu schwer gelingen, im normalen Marke diese beiden Generationen voneinander zu scheiden: Die noch nicht geteilte Generation kennzeichnet sich — siehe Pappenheim — durch einen großen amblychromatischen, will sagen chromatinarmen Kern, indessen das junge Geschlecht einen kleineren, scharf abgegrenzten und chromatinreicheren Kern besitzt. Man sieht das beinahe am schönsten im frischen nativen Strichpräparate des Markes, in welchem sich die jüngere Generation durch ihren relativ kleinen, scharf abgegrenzten Kern lebhafter abhebt. Diese letzteren Zellen sind es wohl ausschließlich, welche im Marke die Umwandlung zu den typischen polymorphkernigen Leukozyten erfahren und normalerweise erst in diesem vollkommen aus-

gereiften Zustande ins strömende Blut gelangen. Auch der Muttergeneration der Myelozyten dürfte auf dem Wege der Alterung gelegentlich, d. h. wenn sie nicht früher eine differenzierende Teilung in Myelozyten-Tochterzellen eingehen, die Fähigkeit einer mehr oder minder weit vorschreitenden Kernlappung zukommen. Dabei bleibt der Kern jedoch chromatinarm und plump, selbst bei weitgehender Lappung. Er verhält sich ähnlich wie etwa der Kern der normalen Übergangsform zum polymorphen Kerne der neutrophilen Zelle.

Im strömenden Blute treten diese Unterschiede und Gegensätze wohl nur selten so hervor, daß sie sich aufdrängen. Entweder sind nur einzelne oder doch spärliche Myelozyten im Blute vorhanden, so daß die geeigneten Vergleichsmedien fehlen, oder aber, wenn viele ins Blut gelangen, dann ist die Blutbildung an sich so weit pathologisch geworden, daß jetzt eine so scharfe Trennung auch nicht mehr augenfällig hervortritt, obwohl es an Vergleichsmaterial nicht fehlt. Übrigens sind die Unterschiede für das geschulte Auge schon noch recht oft zu erkennen. — Aber kümmern Sie sich im allgemeinen nicht darum, das hat nur für den Theoretiker Wert. Praktisch ist es durchaus gleichgültig, welcher Myelozytengeneration eine ausgeschwemmte Zelle zuzuzählen ist, abgesehen davon, daß über sehr viele Zellen auch der gelehrteste Beobachter zu keiner Entscheidung kommen wird. —

Ich habe das zur Klarstellung der zytogenetischen Verhältnisse sagen zu müssen geglaubt, im folgenden rein praktischen Teile unserer Erörterungen kommen diese Gedanken nicht weiter zum Ausdrucke.

Im Rahmen ihrer Definition erscheinen nun die neutrophilen Myelozyten — für gewöhnlich pflegt man einfach „Myelozyt" ohne Zusatz zu sagen, wenn man den neutrophilen meint — voneinander in recht vielen Punkten und in recht weiten Grenzen verschieden. Und zwar betreffen diese Verschiedenheiten die Größe der Gesamtzelle, das gegenseitige Größenverhältnis von Kern und Protoplasma, den Chromatingehalt und die Struktur des Kernes, die Farbenaffinität des Protoplasmas und die Deutlichkeit sowohl als die Färbbarkeit der Granulation. Nehmen wir die einzelnen Punkte der Reihe nach vor.

Die G r ö ß e d e r Z e l l e schwankt in sehr weiten Grenzen. **Größe der Zellen.** Was so ein rechter und typischer Myelozyt ist, soll sich auch

durch seine hervorstechende Größe kennzeichnen. Tatsächlich sind die im myelämischen Blute vorkommenden Zellen oft von ganz ungeschlachter Figur; 15—20 μ dürfen wir wohl als ihre Lieblingsgröße bezeichnen. Das sind so die rechten Mutterzellen; aber daneben sind immer auch kleine Formen zu finden, einmal überwiegend diese, einmal jene, Formen also, welche an Größe einer neutrophilen Zelle annähernd entsprechen; ja es gibt Formen, die ihre 10 μ kaum erreichen dürften. Deswegen und weil etwa diese Zellen noch einen chromatinreicheren Kern und ein schmales Protoplasma besitzen, von „neutrophilen Pseudolymphozyten" zu sprechen oder gar, wie das Pappenheim in seinem Schema tut, alle Myelozyten mit dem Epitheton ornans der „Pseudolymphozyten" auszustatten und sie in große und kleine zu unterscheiden, halte ich — wenn es auch nur im Kleindruck und in der Klammer geschieht — nicht nur für durchaus überflüssig und zwecklos, sondern direkt für höchst gefährlich, weil es Verwirrung schafft. Ich habe überhaupt eine Schwäche für derartige „Pseudo"benennungen, weil sie so furchtbar viel sagen. Schließlich kann man sich sie noch gefallen lassen, wenn man einen ordentlichen Namen dafür nicht hat; wenn man aber einen hat und sogar einen guten und allgemein gebräuchlichen hat, so haben sie im Interesse der Klarheit allesamt, und würden sie auch nur als Nebenbenennung gebraucht, vom Schauplatze zu verschwinden.

Verhalten des Kernes.

Das gegenseitige Verhältnis von Kern und Protoplasma wechselt ebenfalls in recht weiten Grenzen. Manchmal ist um den relativ großen Kern nur eine schmale Protoplasmazone zu sehen, ein andermal halten beide Zellteile einander die Wage, ein drittesmal überwiegt der Zelleib durch seine Mächtigkeit. Im allgemeinen wird man wohl berechtigt sein, mit Pappenheim die Kleinheit des Protoplasmasaumes als Kennzeichen einer jugendlichen Zelle zu betrachten, gehören sie dieser oder jener Generation an, in ganz gleicher Weise, wie wir dies bei den ungranulierten Zellen des normalen Blutes (Lymphozyten) gesehen haben. Die absolute Größe des Kernes ist immer an sich beträchtlich, doch sind im allgemeinen die dunkelfarbigen chromatinreicheren Kerne kleiner als die blassen. Die ersteren lassen auch ganz allgemein bei geeigneter Färbung eine deutlichere und klarere Kernstruktur erkennen.

Der Kern zeigt übrigens, ganz abgesehen von seiner abso-

luten und relativen Größe und seinem Chromatingehalte, noch feinere Färbungsunterschiede, speziell bei Triazidfärbung, welche mir nicht ganz ohne Belang zu sein scheinen. Wenn in einem Blute nur vereinzelte Myelozyten vorkommen, so erscheint der Kern immer rein grün gefärbt, und die Zellen haben überhaupt auch in anderer Hinsicht den vollkommen typischen Habitus. Auch bei der hochgradigen Myelozytose der myeloiden Leukämie entspricht ein großer Teil der Myelozyten diesen Charakteren. Ein anderer, in seiner Zahl ganz außerordentlich wechselnder Teil aber zeigt eine abweichende, verwaschen und schmutzig blaugraue düstere Färbung des Kernes, und auffälligerweise lassen gerade diese Kerne fast regelmäßig ein oder zwei ziemlich große hellere Kernkörperchen erkennen, welche doch sonst beim Myelozytenkerne nicht hervorzutreten pflegen. Auch bei Hämatoxylin-Eosin sieht man dann diese Kernkörperchen sehr deutlich, der Kern erscheint in toto sehr matt gefärbt, chromatinarm; Methylenblau- und Romanowsky-Färbung lassen diese Differenzen nicht hervortreten.

Verhalten der Protoplasmagrundsubstanz (Basophilie).

Die Protoplasmagrundsubstanz der normalen neutrophilen Zelle zeigt keine ausgesprochene Farbenaffinität; sie nimmt Spuren von Farbstoffen in einem Mischtone auf, ohne daß dieser neben der Körnung zur Geltung käme. Auch bei einem Teile der Myelozyten zeigt sich dieses Verhalten einer gewissen Reifung des Protoplasmas. Es wird fast immer so sein, wenn nur einzelne Myelozyten ins Blut ausgeschwemmt werden. Bei der Myelämie verhält sich dagegen ein wechselnder Prozentsatz von Myelozyten insoferne anders, als das Protoplasma in wechselnder Stärke eine ausgesprochene Affinität zu basischen Farbstoffen aufweist, manchmal so stark, daß es bei Methylenblaufärbung direkt blau gefärbt erscheint, mit Hämatoxylin einen ziemlich dunklen Mischton annimmt und mit Triazid schmutzig rotbräunlich erscheint, während bei Anwendung der Färbung nach Romanowsky die stets sehr deutlich violette Körnung in eine himmelblaue Grundsubstanz eingebettet ist. Es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß diese Basophilie der Protoplasmagrundsubstanz einen Ausdruck der mangelhaften Zellreifung darstellt, daß also diese Zellen in einem Stadium mangelhafter Differenzierung aus dem Markgewebe ins Blut übergetreten sind. Ich hebe hervor, daß gerade diese Zellen es sind, welche

auch die oben beschriebenen Kernkörperchen deutlich zur Schau tragen.

Verhalten der Granulation: a) Deutlichkeit und Größe,

Was endlich die Granulation betrifft, so schwankt sie außerordentlich in bezug auf Deutlichkeit ihrer Entwicklung und sehr beträchtlich auch in bezug auf ihr mikrochemisches Verhalten gegenüber den Anilinfarben.

Bei Triazidfärbung, welche für die Darstellung der Granula noch immer das einwandfreieste Verfahren darstellt, erscheinen die Granula der Myelozyten außerordentlich verschieden deutlich entwickelt. Es gibt zunächst immer Zellen, welche eine ebenso schön ausgebildete, gleich große und in ihrer Färbung gleich abgetönte Körnung aufweisen wie die polymorphkernigen neutrophilen Zellen. Insbesondere ist dies stets der Fall bei den einzelnen Myelozyten, welche gelegentlich ohne direkte spezifische Erkrankung des Markes in die Blutbahn gelangen, und auch bei der myeloiden Leukämie bei einem verschieden großen Prozentsatze, im allgemeinen um so häufiger, je weniger weit die Erkrankung vorgeschritten ist. Ein anderer Teil aber zeigt eine viel feinkörnigere, weniger scharf hervortretende Granulation, und zwar das sowohl bei blasser als bei dunkelfarbiger Protoplasmagrundsubstanz. Die Mangelhaftigkeit in der Differenzierung der Granulation kann auch hier so weit gehen wie bei den polymorphkernigen Zellen, indem die Körnung entweder nur mehr als feinste Bestäubung oder gar nicht mehr nachweisbar ist. Im letzteren Falle ist allerdings die Identifizierung einer Zelle als Myelozyt keine einfache Aufgabe mehr, aber sie gelingt schließlich durch den Vergleich mit den anderen Zellarten des Präparates. Ein Versagen der granulären Differenzierung des Protoplasmas bei sonst entwickeltem Zellhabitus des Myelozyten in ausgedehntem Maße ist jedenfalls ein schwerwiegendes Zeichen einer Erschöpfung, ja eines Versiegens der Markfunktion, und wird zu besonderer Vorsicht in der Stellung der Prognose auffordern müssen. In einzelnen, beziehungsweise nicht zu zahlreichen Zellen kommt dieser Befund aber zweifelsohne auch bei den leichtesten und wenigst vorgeschrittenen Fällen leukämischer Erkrankung vor.

b) Farbenaffinität.

Die Farbenaffinität der Granula endlich ist eigentlich bei den wenigsten Myelozyten ganz die gleiche wie bei den polymorphkernigen Zellen des normalen Blutes. Zur Beurteilung dieses Befundes ist das Triazid minder geeignet, da es verschiedene saure und neutrale Farbstoffe enthält, und die Abtönung der Fär-

bung bei der Kleinheit der gefärbten Elemente nicht einfach zu beurteilen ist. Immerhin mag es sein, daß bei vielen Myelozyten ein reineres Violett gegenüber dem überwiegend rötlichen Tone der polymorphkernigen Zellen erkennbar ist. Ganz bedeutend aber tritt der Unterschied bei allen übrigen Färbungen hervor. Zunächst bei Romanowsky, was ich schon oben einmal erwähnte: Geradezu alle Myelozyten färben sich in ihrer Granulation tadellos mit diesem Farbstoffe, während die reifen Granula der polymorphkernigen Zellen oft recht mangelhaft tingiert erscheinen; und der Farbenton der Myelozytengranula ist dabei ein tief violetter. Bei guter Färbung mit Eosin-Methylenblau (z. B. v. Müllern) tritt dies noch mehr hervor. Zunächst erscheinen fast alle Myelozytengranula minder deutlich eosinrot gefärbt als die Körnung der polymorphkernigen Zellen; sodann aber läßt ein anderer Teil eine deutlich violette bis bläuliche Abtönung der Granulation erkennen, im allgemeinen jener Teil, der auch eine stärkere Basophilie des Protoplasmas aufweist, so daß dann die Entscheidung, ob granuliert oder ungranuliert, an und für sich ein geübtes Auge erfordert. Auch bei Hämatoxylin-Eosinfärbung tritt dieselbe Differenz hervor. Während das Protoplasma der reifen neutrophilen Zellen lebhaft und gleichmäßig blaßrot gefärbt erscheint, sieht man im Myelozyten zumeist erstens eine durchaus schwächere Eosinfärbung, zweitens recht häufig eine verschieden abgetönte Mischung von Eosin- und Hämatoxylinaufnahme im Protoplasma, und drittens kann man gar nicht selten, insbesondere über dem Kern, feinste hellrötliche oder fast farblose Stipchen wahrnehmen, als wenn die Zelle mit einer feinsten Nadelspitze gestichelt worden wäre. Es sind dies offenbar die durch Alaunwirkung nicht so ganz wie in der reifen Zelle zum Verschwinden gebrachten eosinarmen oder fast eosinlosen Granulationen, welche sich speziell auf der dunklen Grundlage des Kernes erträglich gut zur Geltung bringen können. Es ist das ein nicht zu unterschätzender Behelf für die Diagnose der Myelozyten bei dieser Färbung, welche ja an sich wenigstens für den Mindergeübten als eine relativ schwierige Aufgabe zu bezeichnen ist.

Alle diese kleinen Symptome, welche ich nun wohl in genügender Klarheit hervorgehoben habe, weisen in vollkommen gleichem Sinne darauf hin, daß in der feinkörnigen Granulation des neutrophilen Myelozyten in einem ganz verschiedenen Grade, aber fast immer nachweisbar, gegenüber jener der reifen poly-

morphkernigen Zelle eine basophile Komponente immer mehr und mehr hervortritt und schließlich überwiegt. Der Befund kann in seiner Tatsächlichkeit und auch in seiner Konstanz nicht dem leisesten Zweifel unterliegen, und ich bin — ad personam — der Überzeugung, daß er geradeso wie die in gleichem Sinne hervortretende Basophilie der Protoplasmagrundsubstanz der Ausdruck einer noch mangelhaften Ausreifung und Differenzierung der neutrophilen Körnung darstellt. Die Granulation dieser wechselnden Farbenreaktion wegen von der ausgebildeten neutrophilen Körnung zu trennen ist unmöglich, sie anders zu benennen sinnlos, zumal da die physikalischen Charaktere der Körnung, welchen ich eine große Bedeutung beizulegen geneigt bin, auch unter diesen Verhältnissen völlig die gleichen sind. Ja man kann sich unschwer überzeugen, daß es in manchen Fällen myeloider Leukämie weitaus leichter ist, die Myelozytengranula im frischen Blutpräparate in voller Klarheit zu sehen, als sie färberisch halbwegs gut zur Darstellung zu bringen.

Wir müssen eben mit der zur Evidenz erweisbaren Tatsache rechnen, daß die feinkörnige mattglänzende Spezialgranulation des menschlichen Blutes und Markes, welche von Ehrlich als neutrophile Körnung bezeichnet worden ist, in ihrer mikrochemischen Farbenreaktion ein wechselndes Verhalten zeigt, insoferne als sie einmal — und das scheint vor allem in unreifem jugendlichem Zustande der Fall zu sein, könnte aber schließlich einmal auch den Ausdruck einer besonderen funktionellen Leistung darstellen — *ein Überwiegen einer basophilen Komponente, ein andermal*, und das ist sicher fast immer bei der vollen Reifung der Granulation der Fall, *ein Überwiegen einer ausgesprochen oxyphilen Komponente mit lockerer Bindung des sauren Farbstoffes aufweist.*

Kernform-umgestaltungen. Und jetzt noch ein Wort über die Kernform der Myelozyten im Blute. Ich habe bereits oben angedeutet, daß auch die Myelozytenmutterzellen im Marke durch einfache Zellalterung eine Kernlappung verschiedenen Grades eingehen dürften. Daß dies bei den Myelozytentochterzellen der Fall ist, braucht keines Beweises, denn *sie* sind es ja ohne Zweifel, welche sich im Markgewebe zur polymorphen Kernfigur entwickeln. Wenn nun in patho-

logischen Fällen fixe Gewebselemente myelozytärer Natur ins periphere Blut ausgeschwemmt werden, so ist es wohl von vorneherein natürlich, daß nicht nur rund- oder ovalkernige Zellen ins Blut gelangen werden, sondern auch deren Kernumwandlungsformen. Wir werden also neben den einfachkernigen Myelozyten neutrophile Zellen mit ausgesprochen blasser oder dunkler Kernfärbung in verschiedenen Stadien der Kernlappung vorfinden, und diese Gebilde werden unserer Nomenklatur einige Schwierigkeiten in den Weg legen. Ich rate Ihnen das ganz vernunftgemäße Vorgehen. So lange die Zelle den Gesamthabitus des Myelozyten an sich trägt, insbesondere auch ihren blaßen plumpen Kern, nennen Sie sie Myelozyt. Handelt es sich um kleinere Formen mit chromatinreicherem Kerne und vorgeschrittener Lappung, so wird es kein Unglück sein, wenn Sie eine solche Zelle, mag sie auch noch nicht die volle Ausreifung der Form erreicht haben, einfach den polymorphkernigen Zellen zurechnen. In allen übrigen Fällen, insbesondere selbst bei vorgeschrittener Lappung dann, wenn der Kern auffällig chromatinarm geblieben ist, bezeichnen sie die Zellen ohne Präjudiz einfach als gelappt-kernige Neutrophile. So können Sie sich in möglichst korrekter Weise über alle Benennungsschwierigkeiten hinweghelfen.

Ich halte es nunmehr für notwendig, zunächst die granulierten Zellen zu verlassen und auf die ungranulierten pathologischen Zellformen einzugehen, welche sich bei myeloider Leukämie und bei anderen schweren Veränderungen im Bereiche des Myeloidgewebes im peripheren Blute zeigen, für welche also schon nach rein hämatologischem Urteile der Ursprung aus diesem Gewebe anzunehmen ist. Die embryologisch-anatomische Forschung der letzten Jahre hat zur vollen Sicherheit erwiesen, daß dies tatsächlich der Fall ist, und gerade um diese Zellformen und ihre Bedeutung drehen sich vielfach die Meinungsverschiedenheiten der einzelnen Forscher, wie wir bereits oben anschaulich zu sehen Gelegenheit hatten. Einen allgemein anerkannten Namen für diese zelligen Elemente gibt es bisher nicht; ich will auch keinen neuen einführen und habe unter den von verschiedenen Seiten gebrauchten Namen Umschau gehalten nach jenem, welcher meiner Überzeugung nach am besten unsere Zellen charakterisiert; ich glaube, es ist dies die Bezeichnung:

Lymphoide Markzellen (II).

Ich will mit den Befunden, welche sich bei der myeloiden Leukämie ergeben, als den charakteristischesten und einwandfreiesten beginnen.

Größe. Bei dieser Erkrankung nun findet man in einem ganz außerordentlich verschiedenen Ausmaße, aber stets ungranulierte Zellen, welche in ihrer Größe sehr bedeutenden Schwankungen unterworfen sind — genau so wie die Myelozyten. Die kleinsten sicherzustellenden Formen übertreffen einen größeren Lymphozyten des normalen Blutes in keiner Weise an Durchmesser, sie dürften also 8—10 μ messen; die größten gleichen den größten Formen der Myelozyten, messen also an die 20 μ. Die gewöhnlichen Formen übertreffen an Größe in mäßigem Grade die normalen polymorphkernigen Zellen, dürften also 12—15 μ im Durchmesser haben.

Kern. Der Hauptbestandteil dieser Zellen ist ein großer, mattgefärbter, länglich-ovaler oder auch vollkommen runder Kern, der seltener kleine Unregelmäßigkeiten der Form zeigt und sich bei allen Färbungen gegen das ebenfalls ziemlich stark färbbare Protoplasma wenig scharf abgrenzt. Ausnahmsweise findet man in Riesenexemplaren auch einmal zwei ovale ganzrandige Kerne nebeneinander. Sein Chromatingehalt ist häufig um eine Spur größer als jener der großen blaßkernigen Myelozyten; er wechselt übrigens, ich habe auch auffällig gut gefärbte Kerne in sonst ganz gleichen Zellen gesehen. Von Struktur ist weder bei Färbung mit Eosin-Methylenblau, noch mit Reuter, noch mit Eosin-Hämatoxylin, noch auch schließlich mit Triazid etwas Deutliches zu sehen; man kann nur eben erkennen, daß der Kern nicht ganz homogen ist. Ein Befund aber läßt sich bei Anwendung der beiden letztgenannten Färbemethoden mit voller Konstanz erheben und drängt sich häufig, namentlich bei Triazidfärbung, dem Beobachter von selbst auf: Man sieht ein oder zwei oder drei sehr deutliche hellere Kernkörperchen oft recht beträchtlicher Größe. Bei Eosin-Methylenblaufärbung ist dieses Bild, soweit ich mich bisher erinnere, niemals zu sehen gewesen; auch bei Reuter-(Romanowsky-)färbung tritt es wenigstens nicht klar zutage. Der Farbenton des Kernes selbst ist bei Triazidfärbung ganz regelmäßig jener düster graubläuliche, wie ich ihn schon oben

bei einzelnen Myelozyten besprochen habe; und gerade dieser eigentümliche, schwer zu beschreibende Farbenton kommt am regelmäßigsten speziell bei dieser Zellart vor und findet sich sonst fast nur bei den aus ihr hervorgehenden Umbildungen. Es ist eine große Ausnahme, daß der Kern einer solchen Zelle einmal ein freundlicheres Blaugrün erkennen läßt.

Größe und Form des Protoplasmas.

Auch das Protoplasma der Zellen zeigt ein ganz typisches Verhalten: Es bildet einen regelmäßig nur schmalen Saum um den Kern und ist durch eine große Affinität zu basischen Farbstoffen ausgezeichnet. Manchmal ist Protoplasma überhaupt nur spurweise um den Kern zu sehen, ein andermal ist es nur an der einen Kernseite in etwas breiterer Zone vorhanden, während an den übrigen Stellen kaum eine zarte Linie seine Gegenwart andeutet. Sehr häufig findet sich gerade bei dieser Protoplasmaarmut noch eine buckelige, pseudopodienartige Abhebung desselben an umschriebenen Stellen, an einer, an zweien oder mehreren, so daß die Zelle aussieht, als wenn der große einfache Kern mit kleinen dunkelfarbigen Warzen besetzt wäre. Zweifellos können sich solche Protoplasmaklümpchen auch abschnüren; man sieht das manchmal ganz schön, indem sich ihre Basis einschnürt und sie geradezu pilzförmig dem Kerne aufsitzen. Manchmal kann man von Protoplasma an einer Zelle überhaupt nur diese Wärzchen nachweisen. Ein anderer Teil der Zellen hat eine größere Protoplasmahülle, so daß man mit der Immersionslinse immerhin an allen Stellen einen jetzt fast stets etwas ungleichmäßig breiten Saum sieht. Die ungleiche Breite kommt dadurch zustande, daß die Zelle rund, der Kern aber länglich gestaltet ist. An jenen Stellen, wo sich nunmehr eine breitere Protoplasmazone vom Kerne abhebt, kann man jetzt nicht selten eine schalenartige dunklere Färbung der Randzone wahrnehmen, während der dem Kerne zugewendete innere Teil weniger Farbstoff aufgenommen hat. Auch bei diesem Zustande kann noch warzige Protoplasmaabhebung oder Lappung beobachtet werden.

Das Protoplasma ist nun zwar, wie ich schon sagte, weitaus überwiegend, aber nicht ausschließlich basophil — wie ich glaube, daß es überhaupt kein rein basophiles Zellprotoplasma gibt. Bei Eosin-Methylenblaufärbung sind höchstens Spuren des sauren Farbstoffes neben dem reichlichen Blau zu

sehen; der Kern ist fast homogen, wesentlich blässer als der umgebende Protoplasmasaum. Bei Eosin-Hämatoxylinfärbung sind Kern und Protoplasma annähernd gleich stark gefärbt; auch hier sind höchstens Spuren von Eosin zu sehen. Bei Romanowskyfärbung hingegen erscheint der Zelleib mehr oder minder stark hellblau gefärbt, indessen der Kern die gewöhnliche Purpurfarbe angenommen hat. Azurfarbige Granula, wie sie in den Lymphozyten oder großen einkernigen Leukozyten vorkommen, habe ich in meinen Präparaten bislang nicht beobachten können. Es soll damit nicht gesagt sein, daß sie nicht vorkommen könnten — ich glaube, daß sie in jeder alternden einkernigen Zelle mit basophilem Protoplasma zu entstehen vermögen. Auch bei Triazid erweist sich das Protoplasma in auffälligem Gegensatz zu jenem der Lymphozyten und der großen einkernigen Leukozyten ganz konstant in einem schmutzig graubräunlichen oder rotbräunlichen Tone gefärbt, zumeist sogar recht kräftig — jedenfalls vielmals stärker als das Protoplasma aller nicht diesem Typus angehörigen normalen und pathologischen ungekörnten Zellformen.

Übergang zur Granulierung.

Diejenige Eigenschaft aber, welche diesen Zellen ihre hohe theoretische Bedeutung sichert, habe ich nun zu besprechen: Ihre nachweisbare Differenzierung will sagen ihren offenkundigen Übergang in die uns bekannten oder noch zu besprechenden Formen von Myelozyten. Es ist das ein Vorgang, den jeder nur halbwegs achtsame Beobachter an Blutpräparaten vorgeschrittener myeloider Leukämie sehen muß, und ich staune, daß die Kenntnis dieses Vorkommens wie überhaupt der Existenz dieser Zellart nicht längst Gemeingut aller Blutuntersuchender geworden ist.

Es ist allerdings folgendes zu beachten: Bei wenig vorgeschrittenen leukämischen Erkrankungen pflegen die eben besprochenen lymphoiden Markzellen nur in sehr geringer Zahl vorzukommen; diese Fälle werden naturgemäß zum Studium ihrer zytogenetischen Beziehungen nicht zu brauchen sein. In weit vorgeschrittenen Fällen jedoch finden sich diese Zellen oft in ganz enormer Zahl, und insbesondere kann man dann fast in jedem Gesichtsfelde eine Zelle sehen, welche Charaktere eines Myelozyten und einer lymphoiden Markzelle miteinander vereinigt. Die Zellen bekommen nämlich ein größeres Protoplasma, die Basophilie dieses Protoplasmas nimmt etwas ab, und es entwickeln sich in ihm, zunächst kaum sichtbar, in anderen, etwas weiter

vorgeschrittenen Zellen aber ganz evident feinkörnige Granula von besonderer Kleinheit. Und so läßt sich eine ununterbrochene Entwicklungsreihe feststellen von der ungranulierten lymphoiden Markzelle zu dem undeutlich und in mehr basophiler Nuance neutrophil granulierten Myelozyten mit basophilem Protoplasma und mit Kernkörperchen tragendem Kerne von düster graublauer Färbung.

Diese letzteren Zellen haben ihre Besprechung schon im vorigen Abschnitte gefunden — eine Grenze läßt sich, sobald einmal die Entwicklung der Granulation begonnen hat, nicht mehr ziehen. — Ich habe diesen Übergang nicht einmal, sondern hunderte Male an tausenden Zellen dieser Art gesehen und muß ihn als etwas absolut Sicheres und Feststehendes betrachten.

Die bisher gegebene Schilderung der den Übergang darstellenden Formen bezieht sich naturgemäß auf Triazidfärbung. Bei jeder Färbung, welche die Granulationen nur mangelhaft zur Darstellung bringt, ist eine Trennung der älteren protoplasmareicheren Formen der lymphoiden Markzellen von den wenig differenzierten Myelozyten mit nur feinster Granulation und überwiegend basophilem Protoplasma noch weniger zu treffen. Die Vergrößerung und Veränderung der Färbungsnuance des Protoplasma geht so ganz fließend weiter, daß einem eben nichts anderes übrig bleibt, als das Vorliegen eines Übergangstypus festzustellen. Eine bereits sich entwickelnde neutrophile Granulation anzunehmen ist man berechtigt, sobald der saure Farbenton dem basischen wenigstens in den inneren perinukleären Anteilen des Protoplasmas erfolgreich Konkurrenz macht. Namentlich bei Eosin-Hämatoxylinfärbung läßt sich das ganz wunderschön feststellen, und ist einmal etwas deutlicher Eosin im Protoplasma nachzuweisen, so kann man gewiß auch auf dem Kerne die noch fast farblosen Stipchen der Granula sehen.

Unterscheidung von den Lymphozyten.

Von den Lymphozyten des peripheren Blutes sind diese Zellen bei geeigneter Färbung jederzeit leicht und sicher zu unterscheiden. Von den praktisch üblichen Färbemethoden sind allein diejenigen nicht zur Differenzierung zu gebrauchen, bei welchen Methylenblau als basischer Farbstoff fungiert. Methylenblau hat nämlich zu allem basophilem Protoplasma hohe Affinität, zu dem des Lymphozyten sowohl, wie zu dem der lymphoiden Markzelle. Bei solcher Färbung ist es schwer, einem Unerfahrenen oder Ungläubigen die Unterschiede begreiflich zu machen. Ich

selbst unterscheide sie auch bei Methylenblaufärbung ohneweiters, aber beweisen kann ich bei solcher Färbung die Berechtigung meiner Unterscheidung niemandem, der nicht über die gleich große Erfahrung verfügt. Aber gerade die Heranziehung der Triazid- und Eosin-Hämatoxylinfärbung, bei welch beiden Methoden die Farbstoffe notorisch nur geringe Affinitäten zum basophilen Protoplasma aufweisen, macht die Differenzierung zu einer durchaus sicheren. Auch bei Romanowsky-Färbung ist die Trennung schwer, soferne es sich um die kleinsten Formen handelt, aber immerhin leichter durchzuführen als bei einfacher Methylenblaufärbung.

Soweit der objektive Befund bezüglich lymphoider Markzellen bei der myeloiden Leukämie.

Vorkommen außer bei myeloider Leukämie.

Es wäre aber weit gefehlt, anzunehmen, daß derartige Zellen nur im leukämischen Blute beobachtet werden. Ich habe sie bereits sehr häufig bei anderen Erkrankungen, welche mit einer schweren Schädigung des Markgewebes einhergehen, auftreten sehen: So insbesondere bei Karzinose des Knochenmarkes und Anämia infantum pseudoleucaemica, will sagen bei schweren Kinderanämien überhaupt.

Gleich anschließen muß ich hieran die Besprechung einer gewissen, in die Gruppe der ungranulierten leukozytären Knochenmarkselemente gehörigen Zellvariante, welche ich in meiner Arbeit über das Verhalten des Blutes bei Infektionskrankheiten unter dem Namen der

Reizungsformen (II a)

besprochen habe.

Ich bin vollauf überzeugt, daß diese Gebilde, welche sich morphologisch etwas abweichend von den jetzt beschriebenen Bildern verhalten, doch in gleicher Weise zu deuten sind. Ich habe die Überzeugung, daß die ungranulierten Knochenmarkszellen, entsprechend der hohen Differenzierungsgabe, welche ihnen innewohnt und das Wesen der zellbildenden Funktion des myeloiden Gewebes ausmacht, sich nicht nur in dem einen Sinne, nämlich zum Myelozyten hin, zu entwickeln vermögen. Was wir bei der myeloiden Leukämie im Blute gesehen haben, ist eben diese Entwicklungsreihe, welche die ausschließliche Herrschaft an sich reißt, weil es das leukoblastische Gewebe ist, welches

in rasender Wucherung proliferiert. Es darf uns nicht wundernehmen, wenn unter anderen Bedingungen der Markschädigung ganz indifferente Zellen oder aber andere Differenzierungsreihen uns zu Gesichte kommen, welche wir bei der myeloiden Leukämie selber vermissen. Und ein Glied einer solchen, wahrscheinlich in anderer Richtung — in welcher aber, ist nicht zu sagen — vor sich gehenden Differenzierungsreihe der ungranulierten Markzellen dürften meiner Auffassung nach die sogenannten „Reizungsformen" darstellen.

Definition und Größe.

Es sind einkernige ungranulierte Zellen, deren Größe in ähnlichen Grenzen wechselt wie jene der lymphoiden Markzellen. Sie halten sich jedoch im allgemeinen näher den kleinen und mittelgroßen Formen und unterscheiden sich auch dadurch von den eben besprochenen Zellen, daß ihr Kern im Vergleiche zum Protoplasma zumeist verhältnismäßig kleiner erscheint, dabei gewöhnlich chromatinreicher und schärfer abgegrenzt ist, und daß ihr Protoplasma durch den höchsten Grad von Basophilie alle anderen mir je bekannt gewordenen Zellformen weitaus übertrifft.

Kern.

Der Kern zeigt eine deutliche Struktur und nur selten erkennbare Nukleoli; in prächtiger Weise und konstant hat auch er bei Triazidfärbung jenen düster graublauen Farbenton, den ich für ein charakteristisches Kennzeichen unreifer, beziehungsweise wenig differenzierter Zellelemente besonders des Myeloidgewebes zu halten geneigt bin.

Protoplasma.

Das Zellprotoplasma ist sehr verschieden reichlich, zumeist jedoch mindestens ein breiter Saum, häufig sogar eine beträchtlich große kompakte Masse, innerhalb welcher dann der Kern exzentrisch zu liegen pflegt. Mit Methylenblau erscheint es rein und tief blau gefärbt, stärker noch als der ebenfalls kräftig gefärbte Kern, derart, daß man einen großen intensiv blauen Fleck sieht, innerhalb welches einem die Differenzierung des Kernes einige Mühe machen kann. Bei Romanowsky-Färbung erscheint das Protoplasma ebenfalls tiefblau; azurfarbene granulaartige Einlagerungen konnte ich niemals beobachten. Bei Eosin-Hämatoxylin ist das Protoplasma stets wesentlich minder dunkel gefärbt als der Kern und hat dabei auch sehr deutlich geringe Spuren von Eosin aufgenommen. Bei Triazidfärbung endlich ist das Protoplasma auffällig dunkel gefärbt, und zwar in einem satten rotbraunen Farbentone, viel dunkler noch als das

Protoplasma der typischen lymphoiden Markzellen. Andeutung von neutrophiler oder anderer Granulation habe ich niemals gesehen.

Bedeutung dieser Zellart.

Ehrlich hat gemeint, daß diese Zellen möglicherweise ein früheres Entwicklungsstadium kernhaltiger roter Blutkörperchen darstellen. Ich habe einen solchen Eindruck mit Bestimmtheit nicht bekommen. Gerade die eigenartige Färbbarkeit ihres Protoplasmas — man berücksichtige insbesondere die Färbung nach Romanowsky und jene mit Methylenblau — sprechen mir mit voller Entschiedenheit dagegen, ganz abgesehen davon, daß der Kern zwar bereits eine Struktur aufweist, welche sich noch am meisten der eines Lymphozyten nähert, aber niemals jene außerordentlich charakteristische Kernfigur bietet, welche abnorm große Erythroblasten jederzeit und auf den ersten Blick kennzeichnet. Beide Momente zwingen mich, diese Zellen auch weiterhin unter die mangelhaft differenzierten Markelemente leukozytären Charakters einzureihen.

Vorkommen.

Die Reizungsformen finden sich im Blute bei länger dauernder Leukozytose oder bei Anämie erzeugenden Kachexien (z. B. Karzinome auch ohne Knochenmarksmetastasierung) unter denselben Bedingungen, unter welchen zumeist auch spärliche Myelozyten und Erythroblasten ins Blut ausgeschwemmt werden.

Pathologische Formen der Eosinophilen.

Ich kehre jetzt zur Beschreibung der pathologischen Formen granulierter Leukozyten zurück und wende mich zu den oxyphil granulierten Zellen. Auch sie erleiden in krankhaften Zuständen gleiche Veränderungen ihrer Größe, wie ich sie Ihnen eingangs der Besprechung der pathologischen Neutrophilen mitgeteilt habe; doch sind derartige „eosinophile Riesen“ oder „eosinophile Zwergkörperchen“ immerhin seltener zu finden. Die wesentlichste Abnormität stellen auch im Gebiete der oxyphilen Granulation dar

die eosinophilen Myelozyten (III).

Übereinstimmung mit den neutrophilen Myelozyten.

Ich kann mich bei ihrer Besprechung wesentlich kürzer fassen, da abgesehen von der Granulation alle Momente bis in die kleinste Einzelheit mit dem übereinstimmen, was ich in bezug auf die neutrophilen Myelozyten gesagt habe. Also die Zellgröße und ihre Schwankungen, das Verhältnis zwischen Kern und

Protoplasma, die Detailstruktur des Kernes mit Einschluß der Kernkörperchen und des nicht selten graublauen Farbentones bei Triazidfärbung — alles dies ist genau so wie beim neutrophilen Myelozyten.

Auch das Protoplasma stimmt insoweit überein, als viele Formen auch der eosinophil granulierten Markzellen einen dunkel basophilen Zelleib besitzen, in dessen Maschenwerk sich die leuchtend roten Granulationen in ganz eigenartigem Kontraste abheben.

Das einzige, was uns beschäftigen wird und beschäftigen muß, sind die Granula selbst. Diese sind durchaus nicht so gleichartig und wohlcharakterisiert wie jene der reifen eosinophilen Zellen. Eigenschaften der Granulation:

Zunächst ist schon die Größe wechselnd. Es gibt im leukämischen Blute und gelegentlich wohl auch sonst bei hochgradiger Vermehrung unserer Zellart im Blute Eosinophile, deren Körnung auffällig klein erscheint, so daß ein Unerfahrener vielleicht einen Augenblick stutzen könnte, namentlich wenn er für Triazidfärbung nicht gerade geeignet fixiert hat, so daß die Farbendifferenz gegenüber den Neutrophilen, welche schon bei den normalen eosinophilen Zellen keine übermäßig große ist, noch mehr als gewöhnlich zurücktritt. Verwechslungen sind aber doch bei aufmerksamer Beobachtung stets zu vermeiden. a) Größe,

Viel häufiger kommt es vor, daß die Granula entweder durchwegs oder wenigstens zum Teile größer sind als die normale oxyphile Körnung; dann sind sehr häufig auch ganz ungleich große Körnchen in einer und derselben Zelle eingelagert — man könnte beinahe an eine Fettkörnchenzelle erinnert werden. Auch glänzen häufig derartige Granula schon im frischen Zustande etwas weniger stark und sie sind auch färberisch nicht durchaus gleichwertig den normalen. b) Glanz,

Das färberische Verhalten ist es nämlich im besonderen, welches die Granula der eosinophilen Myelozyten und einiger weniger polymorphkerniger eosinophiler Zellen bei hochgradiger Vermehrung dieser Zellart im Blute auszeichnet. Bekanntermaßen ziehen die reifen oxyphilen Granulationen bei verschiedener Hitzefixation auch verschiedene saure Farbstoffe vor, ähnlich wie die anderen oxyphilen Gewebsteile. Sie stehen immer einen Schritt hinter dem Hämoglobin. Ist dieses infolge von Überhitzung rein hellgelb gefärbt, so sind die reifen eosino- c) Farbenaffinität,

philen Granula orange; sind die Erythrozyten, wie es sein soll, orange, so sind die eosinophilen Granula vorwiegend kupferrot; sind die Erythrozyten noch fuchsinfarben, so sind es natürlich die eosinophilen Granula gleichfalls — kurzum, sie wählen von den sauren Farbstoffen die um ein weniges dunklere Nuance aus als das Hämoglobin, haben also nach den hiefür geltend gemachten Gesetzen etwas weitere Intermicellarräume.

Unter pathologischen Verhältnissen nun tritt dies, wenn unausgereifte eosinophile Zellen in die Blutbahn gelangen, noch weitaus mehr hervor. Es ist nichts Ungewöhnliches, daß sämtliche Granula einzelner oder fast aller eosinophilen Myelozyten eines leukämischen Blutes bei Triazidfärbung fuchsinrot erscheinen gegenüber der hellen Kupferfarbe der reifen eosinophilen Körnung, namentlich bei etwas niedriger Fixation. Der Unterschied ist dann stark in die Augen springend.

Noch auffälliger aber ist die Tatsache, daß sich sehr gewöhnlich innerhalb derselben Zelle verschiedenfarbige Granula finden. Ein Teil der Körnung z. B. erscheint prächtig orangefarben; einige andere, vielfach etwas größere Granula aber sind violettrot, ja hie und da, nämlich bei etwas übertriebener Hitzefixation, erscheinen manche sogar direkt schwärzlich. Das gibt dann ein außerordentlich charakteristisches Bild, an dem man auch die verstreut liegenden Granula eines bei der Präparation zerrissenen eosinophilen Myelozyten ganz leicht als solche wieder erkennen kann.

Protoplasmagrundsubstanz (Basophilie).

Ganz instruktiv gestaltet sich das Verhalten solcher Zellen auch bei Eosin-Hämatoxylinfärbungen. Zunächst nehmen nicht alle eosinophilen Granula in gleichem Maße den sauren Farbstoff auf. Wir sehen manche Zellen überhaupt nur mit ganz matt gefärbten und weniger lichtbrechenden Granulationen besetzt, und manchmal sind diese auch noch auffällig spärlich. Dann hat auch gewiß die ganze Zelle den Habitus einer lymphoiden Markzelle: verhältnismäßig schmales Protoplasma von starker Basophilie und einen Kernkörperchen tragenden Kern. Es ist also genau dasselbe Bild wie bei jenen Myelozyten, deren Differenzierung aus lymphoiden Markzellen wir oben feststellen und verfolgen konnten.

Übergänge von ungranulierten zu eosinophil granulierten Zellen.

Zunächst sind es speziell hier wenige, manchmal gruppierte und nur ganz schwach eosinfarbene Granula, welche in das dunkelfarbene Protoplasma eingebettet erscheinen. Ein andermal sind die Granula zwar zahlreicher, aber noch immer

nicht so dicht wie in der normalen Zelle und eben so schwach oxyphil wie die früheren; und so geht es fort, immer weiter in der Entwicklung bis zu der schon annähernd typischen Form, welche nur vielleicht noch durch leicht basophiles Protoplasma und etwas mattere Granulationsfärbung absticht. Bei Triazidfärbung erscheinen diese Granula in einem bräunlichroten bis rotvioletten Tone gefärbt, immer etwas heller als die neutrophile Körnung.

Ganz ähnlich ist das Verhalten bei Färbung mit Eosin-Methylenblau, doch erhalten wir hier die Erklärung für die besondere Blässe der Granulationsfärbung mit Eosin: Bei genügend kräftiger Methylenblaunachbehandlung nämlich zeigen viele dieser matt mit Eosin gefärbten Körnchen einen violetten Ton, sie haben auch Methylenblau, wenngleich nur spurweise, aufgenommen. Färbt man mit einem Gemische verschieden dunkelfarbiger saurer Farbstoffe, z. B. mit Ehrlichs Eosin-Aurantia-Nigrosingemisch, so färben sich diese Granula mit dem dunkelsten Farbstoffe schwärzlich: Sie sind indulinophil, was offenbar wiederum auf ihre verhältnismäßig lockere Struktur und ihren Wasserreichtum hindeutet.

Bedeutung der dunkelfärbigen Granula.

Ich habe wohl bereits angedeutet, daß wir derartige Granulationen so gut wie ausschließlich in Zellen finden, welche auch in ihrem Kern- und Protoplasmacharakter die Kennzeichen des Unfertigen, Unausgereiften, noch mangelhaft Differenzierten tragen. Es wird uns nicht schwer, der Ehrlichschen Lehre zu folgen, daß diese „Amphophilie" oder „Indulinophilie" der Ausdruck des unausgereiften Zustandes auch der Granulation selbst ist.

Geringere Resistenz pathologischer Granula.

Noch eine Eigenschaft eosinophiler Granulation, welche bei hochgradiger Vermehrung dieser Zellart gelegentlich einmal vorkommen kann, möchte ich hervorheben. Ich habe vor kurzem Gelegenheit gehabt, eine schwere Hauterkrankung hämatologisch zu untersuchen, welche eine hochgradige und typische Eosinophilie aufwies; es waren einmal unter etwa 60.000 Leukozyten mindestens die Hälfte, bei einer zweiten Untersuchung unter 32.000 weißen etwa 46% Eosinophile zu zählen. Mit Eosin-Methylenblau und mit Triazid färbten sich diese Granulationen völlig tadellos, nur waren bei Triazidfärbung spärliche dunklere Granula vorhanden, was uns nicht wundernimmt. Als ich aber mit einem an sich vorzüglichen Ehrlichschen Hämatoxylin vorfärbte, konnte ich nur mehr ganz elende Reste der Granu-

lation mit der Eosinnachfärbung darstellen, der größte Teil war verschwunden oder bis auf kleine Reste ausgelaugt worden. Es ist das wohl eine pathologisch herabgesetzte Resistenz, sei es nur gegen Alaun, welcher die Färbung auch der normalen eosinophilen Zellen schon gerne beeinträchtigt, sei es gegen die Essigsäure des Hämatoxylingemisches. Eine weitere Bedeutung mag wohl auch diesem vereinzelten Vorkommnis nicht innewohnen.

Ein recht interessantes Kapitel eröffnet sich uns nun mit der Besprechung der

Pathologischen Mastzellen (IV).

Bei dieser Zellart spielt nämlich die Einkernigkeit, also der Myelozytencharakter, keine so hervorragende Rolle wie bei den anderen granulierten Zellarten, dagegen sind die Abnormitäten der Granulation selbst gerade bei dieser Zelle am hervorstechendsten und schönsten.

Einkernige Mastzellen.

„Mast"-Myelozyten kommen allerdings auch im Blute vor, und zwar, soweit mir bekannt, ausschließlich bei der myeloiden Leukämie, welche auch zahlreiche Mastzellen mit blassem und wenig gelapptem Kerne im Blute aufweist. Solche Zellen sind auch gelegentlich einmal abnorm, meistens aber doch mäßig groß, immerhin größer als die gewöhnlichen Mastzellen. Aber das sind, wie gesagt, beinahe Seltenheiten, welche nur wenig Beachtung verdienen. Die Mehrzahl der Mastzellen zeigt auch bei der myeloiden Leukämie die gewöhnliche Kleinheit und den gewöhnlichen Habitus, den ich früher beschrieb.

Pathologische Mastzellen-granula.

Wenn man aber Leukämien in etwas vorgeschritteneren Stadium untersucht, insbesondere solche, bei denen die Mastzellenvermehrung eine hervorragende Rolle spielt, so ist man erstaunt, Zellen zu sehen, welche in ihrem ganzen Gehaben leicht kenntlich den Stempel ihrer Mastzellennatur tragen, aber in ihrem Protoplasma in äußerst verschiedener Zahl wohlerhaltene gefärbte Granulationen besitzen, und zwar sowohl bei Triazid-, als bei Eosin-Methylenblau, als bei Eosin-Hämatoxylin, als bei Romanowsky-Färbung. Ich brauche Sie wohl nicht daran zu erinnern, daß bei all diesen Färbungen eine normale Mastzelle keine Granulationsfärbung besitzt, weil die Körnchen aufgelöst wurden, daß man vielmehr entweder ein weißliches Protoplasma

um einen meist zusammengeknäuelten Kern sieht, oder unter besonders günstigen Verhältnissen auch in aufdringlichem Weiß innerhalb des Protoplasmas die Lücken beobachten kann, in welchen ehedem die Granula eingebettet lagen.

Das kann man nun in unseren pathologischen Mastzellen alles mit der gleichen Schönheit ebenfalls sehen. Aber sie tragen daneben noch eine Körnung. Diese ist wohl nicht etwas Akzidentelles, ist gewiß auch nicht als Alterungs- oder Degenerationsprodukt des Protoplasmas aufzufassen, sondern, wie es sich aus dem Vergleiche hunderter derartiger Zellen und aus der völligen Gleichartigkeit des Befundes unter allen Umständen ergibt, als eine echte und wahre Granulation. Diese hat also ganz im Gegensatze zur normalen Mastzellenkörnung der Einwirkung von Wasser, von wässerigen und sauren Farbstofflösungen getrotzt und färbt sich zum Schluß noch nicht einmal basisch und metachromatisch, sondern in einem ganz außerordentlich wechselnden Farbentone.

Färberisches Verhalten dieser Granula.

Bei Triazid haben diese Granula zumeist eine ähnliche Färbung wie die unreifen Körner der eosinophilen Myelozyten, aber ebenso wie diese in verschiedener Abtönung. Bei Eosin-Hämatoxylin erscheinen sie immer mattrot, aber ebenfalls wechselnd. Es kann sein, daß in derselben Zelle einige dunkler und einige blässer sind. Am instruktivsten ist das Bild bei Anwendung von Eosin-Methylenblaufärbung. Ich habe gerade jetzt eine Zelle vor mir im Mikroskope, welche den ganz klassischen Mastzellentypus trägt, negativ gefärbte Granula in mäßiger Zahl aufweist und daneben eine beträchtliche Zahl ziemlich lebhaft roter und schwach glänzender Körnchen von der Größe eosinophiler Granulationen zeigt, aber dazu noch ein drittes: In nicht geringerer Zahl sind blaßblaue Granula nachweisbar, kaum glänzend, aber eben so groß wie die rotgefärbten. Alle drei Arten von Körnung dürften einander, was Zahl betrifft, die Wage halten. Und das sieht man öfter — wohl selten so schön, aber ich könnte Ihnen in dem einen Präparate, das ich vor mir habe, vielleicht hundert derartige Zellen in mehr oder minder typischer Entwicklung zeigen. Manche Zellen haben vorwiegend negativ gefärbte, also echt basophile Granulation, daneben vielleicht drei bis vier rötlich schimmernde Körnchen; andere weisen zwanzig oder dreißig solche Körnchen auf neben spärlicheren hellweißen Lücken; an-

dere haben keine rein roten, sondern nur violette Granula neben den Lücken — und so geht es fort, ohne Grenze. Bei Färbung nach Romanowsky erscheinen diese nicht löslichen Granula dunkelviolett gefärbt; schöne Farbendifferenzen habe ich bei dieser Färbung nicht feststellen können. Bei rein basischer Mastzellenfärbung erscheinen alle diese Granula mit dem basischen Farbstoff gefärbt, allerdings in sehr verschiedener Stärke. Bei der Methylenblau-Jodfärbung z. B. findet man sie als mattbraune Fleckchen neben den dunkelschwärzlichen Körnern der typischen Granulation.

Entwicklungsstadien grobgranulierter Zellen.

Anhangsweise möchte ich bemerken, daß man auch Zellen vom vollen Typus der lymphoiden Markzellen findet, welche in ihrem Protoplasma einige violett oder bläulich gefärbte grobe Granula aufweisen — offenbar Entwicklungsstadien in eben beginnender Differenzierung. Ob aus denen ein eosinophiler Myelozyt oder am Ende eine Mastzelle geworden wäre, das entscheiden zu wollen, ist müßige Spielerei.

Ich wiederhole nochmals, daß man all diese pathologischen Formen der Mastzellen in den betreffenden Blutsorten nicht etwa ausschließlich vertreten findet; sie machen immer, auch wenn sie am zahlreichsten sind, die Minderzahl der Mastzellen aus, und bei geringerer Vermehrung dieser fehlen sie selbst im Blute myeloider Leukämie auch ganz.

Bedeutung der atypischen Körnung.

Ob man nun das Vorkommen derlei abweichender Typen von Granulation ebenfalls als Ausdruck der Unreife oder aber als Ausdruck eines völligen Abirrens von der normalen Art der Zellentwicklung betrachten soll, mag dahingestellt bleiben. Feststellen kann ich nur, daß alle diese Zellen mit Ausnahme jener überhaupt undefinierbaren Einzelbilder, welche noch an die lymphoiden Markzellen erinnern, den vollentwickelten und an sich ja außerordentlich charakteristischen Mastzellentypus tragen. Wir müssen sie also gewiß als Mastzellen bezeichnen, mögen sie nun eine oder zwei oder drei verschieden aussehende Arten von Granulation in ihrem Leibe tragen.

Mitosen in Markzellen.

Damit, meine Herren, habe ich die pathologischen Zellformen, deren Ausgang vom Marke anzunehmen wir ohneweiters berechtigt sind, erledigt. Wenn ich noch anfüge, daß im myeloid-leukämischen Blute sich nicht selten auch Mitosen der verschiedenen Markzellen finden, und daß sonst typische Myelozyten gelegentlich

auch zwei wohlausgebildete einfache Kerne tragen können, so glaube ich, daß ich nichts Wesentliches übersehen habe. Sie werden sich aus dem Gegebenen, wenn Sie noch die äußerst selten ins Blut gelangenden Knochenmarks-Riesenzellen und die kernhaltigen Erythrozyten, welche in einem früheren Kapitel geschildert wurden, sowie die normalen Zellen des Blutes hinzunehmen, ein ziemlich vollständiges Bild von alledem machen können, was von Knochenmarkselementen im Blute unter normalen und pathologischen Verhältnissen beim Menschen überhaupt jemals zu sehen ist. Ich habe alle Schilderungen ganz ausschließlich nach eigener Erfahrung ohne jede Berücksichtigung der hierüber ja zum Teile auch vorliegenden Literatur gegeben, um durchaus objektiv zu sein und mich später ausschließlich auf meine eigenen Beobachtungen berufen zu können.

---

14. Vorlesung.

(Pathologische Lymphozytenformen. Kritische Besprechung der Fragen von der Spezifität der Granulationen und über den Zusammenhang der einzelnen Leukozytenarten. Histiogene Leukozytenbildung.)

Ich habe nun zunächst noch die Aufgabe, Ihnen jene pathologischen Zellformen zu schildern, welche bei Erkrankungen des Lymphoidgewebes ins Blut gelangen, und welche wir mit vollem Rechte aus dem lymphoiden Systeme ableiten dürfen. Ihre Kenntnis ist uns schon deshalb von besonderem Interesse und Werte, weil ja, wie wir früher gesehen haben, eine der meist umstrittenen Fragen in der modernen Hämatologie gerade die ist, ob man ein myeloides und ein lymphoides System nach Ehrlichs Vorgange auch weiterhin strenge voneinander zu scheiden hat, oder ob die ungranulierten einkernigen Elemente des Markes mit den Lymphozyten der Drüsen und der anderen adenoiden Apparate als identisch zu betrachten sind.

Pathologische Zellformen werden aus dem lymphoiden Systeme, unter welchem ich vorläufig nach Ehrlich die Drüsen und alle anderen adenoiden Apparate verstehen will, in den Lymphstrom und ins Blut nur bei jenen eigenartigen Wucherungsprozessen dieses Systemes gelangen, von welchen klinisch und hämatologisch die lymphoide Leukämie den markantesten Typus darstellt. Ich will also der Einfachheit halber von der lymphoiden Leukämie, welcher sich alle übrigen überhaupt Zellen ausschwemmenden Lymphomatosen vollkommen gleichartig anschließen, bei meinen Besprechungen ausgehen.

„Kleinzellige" Lymphämie.

Sie werden viel von „kleinzelliger" lymphoider Leukämie hören und überall die Angabe finden, daß in diesen Fällen das Blutbild beherrscht wird von den unveränderten typischen kleinen Lymphozyten.

Nun in den allergröbsten Zügen ist das ja richtig. Wenn man eine einzelne Zelle für sich herausnimmt, so bekommt

man tatsächlich den Eindruck, das sei ein ganz unveränderter Lymphozyt. In Wirklichkeit ist dies aber so gut wie niemals bei einem irgendwie größeren Anteile der das Blutbild beherrschenden Zellen der Fall. Sie können das erst beurteilen, wenn Sie einmal einen wirklich unveränderten Lymphozyten zum Vergleich ins Gesichtsfeld bekommen. Einzelne solche Exemplare gibt es ja immer noch, solange überhaupt ein kleinster Teil des ganzen Systems von der Erkrankung verschont blieb; manchmal sind sie, speziell in frühen Stadien, auch noch gar nicht so spärlich. Wenn man nun ein solches normales Zellgebilde sieht, so erstaunt man gewöhnlich sehr darüber, wie wenig genau die anscheinend vollkommen unveränderte Hauptmasse der Zellen mit ihrem normalen Urbilde übereinstimmt. Regelmäßig sind erstens die Zellen, wenn sie auch auf den ersten Blick im dickeren Präparate klein erscheinen, dennoch sichtlich vergrößert. Stellt man eine dünne Partie des Präparates ein, so merkt man das gleich, aber an dicken Stellen ist die Täuschung um so leichter möglich, als der ganze Zellcharakter sonst jenem des kleinen Lymphozyten entspricht. Zweitens ist dann nicht selten auch ein Unterschied in der Färbung bemerkbar; der normale Lymphozyt ist nicht nur kleiner, sondern auch in Kern und Protoplasma sichtlich stärker gefärbt.

Bei einer anderen Reihe von Fällen ändert sich das Bild jetzt insoferne, als nunmehr in größerer Zahl

die großen Lymphozyten,

welche normalerweise nur als seßhafte fixe Gewebselemente den adenoiden Geweben angehören und nicht in die Zirkulation kommen, im Blute beobachtet werden. Sie bilden normalerweise gewissermaßen die Matrix des lymphoiden Gewebes und heben sich im Inneren der Follikel als blässere größerzellige Inseln ab. Sie sind um ein beträchtliches größer als der normale Lymphozyt des zirkulierenden Blutes, erreichen etwa den Durchmesser der polymorphkernigen Zellen. Sie besitzen einen großen, runden, chromatinarmen Kern und ein schmales, schwach basophiles Protoplasma. Sie unterscheiden sich also von den kleinen Lymphozyten nur durch ihre Größe und durch die auffällige Chromatinarmut ihres Kernes bei sonstiger Beibehaltung des Zellcharakters.

Zellbild.

Häufigkeit ihres Vorkommens im Blute.

Diese Elemente nun gelangen bei fast allen Erkrankungsformen der erwähnten Art in irgend einer wechselnden Verhältniszahl in die Peripherie. Es gibt Bilder, bei denen sie zurücktreten, andere, bei welchen sie mit den kleineren und dunklerkernigen Formen in gleicher Zahl beobachtet werden, andere, bei denen sie stark überwiegen. Im allgemeinen darf man sagen, daß die Raschheit der Zellproliferation und damit auch des Krankheitsverlaufes bis zu einem gewissen Grade bestimmend auf dieses Verhältnis einwirkt; aber es besteht keine fixe Abhängigkeit.

In solchen Fällen finden wir jetzt auch weitergehende morphologische Veränderungen und Abweichungen im färberischen Verhalten an allen Arten der im Blute vorfindlichen lymphoiden Zellen.

Kern-umwandlung: Zerschnürung, Lappung.

In erster Linie zu nennen sind Veränderungen der Kernform. Wir sehen jetzt weitaus häufiger als im normalen Blute kleine Einschnitte des Kernes; sie werden tiefer und tiefer, schließlich wird der Kern in zwei annähernd gleiche oder auch verschieden große Hälften zerteilt, welche durch eine manchmal nicht eben gerade Rinne voneinander getrennt sind, wie die Hälften einer Kaffeebohne. Es kann auch der eine Teil des Kernes noch einmal in gleicher Weise zerschnürt erscheinen. Oder es finden sich überhaupt tiefgreifende Lappungen verschiedener Art — kurzum, Kernformen von bedeutender Unregelmäßigkeit, welche aber niemals den Charakter der schlanken Polymorphie an sich tragen wie jene der granulierten Knochenmarkselemente. Das sind jene Kernveränderungen, welche Rieder besprochen hat, und deren Träger noch immer als „Riedersche Zellen“ in der Literatur figurieren.

Ich betone, daß solche Kernveränderungen an den Lymphozyten gar niemals unter normalen Verhältnissen vorkommen und sonach auch nicht als der Ausdruck der physiologischen Alterung angesehen werden dürfen; im normalen Blute zeigen vielmehr hie und da gerade jene Zellen eine kleine Kerbe, die wir mit besonderem Rechte als jugendfrische Elemente betrachten dürfen.

Vergrößerung von Kern und Zelleib.

Auch das Verhältnis zwischen Kern und Protoplasma ist unter solchen Umständen häufig gestört. Es können beide Zellanteile zugenommen haben, so daß ein größerer Kern in einem besonders vergrößerten Protoplasma liegt — etwa ein „alter“ Lymphozyt des normalen Blutes, nur in vergrößertem For-

mat. Gerade bei diesen Zellen hat dann gewöhnlich noch viel mehr, als dies auch bei allen bisher beschriebenen Formen vorkommt, die Färbbarkeit des Kernes sowohl als namentlich des Protoplasmas gelitten. Man muß eine halbe Stunde in Hämatoxylin färben, und doch ist noch alles schattenhaft blaß, namentlich das Zellprotoplasma, das entweder ganz weiß bleibt oder höchstens am Rande nach langem Zögern ein wenig basischen Farbstoff aufnimmt. Auch mit Methylenblau geht es nicht besser, eher noch schlechter; Eosin ist in solche Zelleiber überhaupt nicht hineinzubringen. Am ehesten erhält man noch mit Reuter, beziehungsweise Romanowsky eine blaßbläuliche Färbung. Geradezu scheußlich sehen derartige Präparate bei Triazidfärbung aus, da es selten gelingt, die Hauptmasse der Zellen gut sichtbar zu färben. Einzelne annähernd normal gebliebene Lymphozyten heben sich dann besonders vorteilhaft von ihren widerspenstigen Vettern ab. Schlechte Färbbarkeit dieser Elemente.

Dazu kommt endlich, daß diese Zellen äußeren Schädlichkeiten gegenüber auch ganz ungewöhnlich empfindlich sind. Wenn man ein Deckglaspräparat in der gewöhnlichen Weise anfertigt, kann es einem passieren, daß ein Viertel oder gar beinahe die Hälfte der Zellen zerrissen sind — um so mehr, je dünner das Präparat ist. An dicken Stellen sieht man dann die wohlerhaltenen Zellen, an dünnen die unregelmäßig gestalteten, blaßfärbigen, oft wie Spinnengewebe aussehenden Kernreste der bei der Präparation zertrümmerten Zellen neben einer Anzahl noch erhaltener aber plattgedrückter größerer Elemente. Es ist das durchaus nicht bei allen Fällen gleich; manche zeigen aber diese Zerreißlichkeit in einem so hohen Grade, daß einem nichts übrig bleibt, als die Deckglasmethode zu verlassen und Strichpräparate mit Hilfe eines geschliffenen Glasstabes auf dem Objektträger zu machen. Zerreißlichkeit derselben.

All das ist zwar praktisch sehr wichtig, interessiert uns aber dermalen nicht weiter. Bedeutungsvoller ist vielmehr für unsere Zwecke der Umstand, daß es Fälle besonders stürmischer Wucherung gibt, bei denen nicht nur die an sich typischen großen Lymphozyten der Flemmingschen Keimzentren, also die normalen fixen Parenchymzellen, ins strömende Blut gelangen, sondern wo überhaupt eine Umgestaltung auch dieser letzteren Zellart stattfindet, eine Umgestaltung, wie ich glaube, im Sinne der Entdifferenzierung, der Annäherung an jene einzige große ein- Weitere Entdifferenzierung der „großen Lymphozyten."

kernige ungranulierte Zellart, welche im frühesten Embryonalleben das ganze Geschlecht der Leukozyten repräsentiert, und welche ich schon früher als „embryonale Stammzelle" bezeichnet habe.

„Lymphoid-zellen":

Auf diesem Wege entstehen Zellformen, welche schon ganz wesentlich anders charakterisiert sind als der normale Lymphozyt des kreisenden Blutes, welche aber auch von dem Typus des großen Lymphozyten in mancher Hinsicht abweichen, trotzdem aber zumeist ebenfalls als „große Lymphozyten" den normalen fixen Gewebselementen des adenoiden Apparates gleichgestellt werden

Was man aber da alles als Lymphozyten bezeichnen muß! Diese Zellen nämlich haben ganz ungeberdige Gewohnheiten und tragen ein Äußeres zur Schau, das uns für gewöhnlich an alles andere denken ließe, als an einen Lymphozyten.

a) Größe,

Zunächst ist ihre Größe so außerordentlich wechselnd, wie wir das sonst nur bei den pathologischen Zellformen aus dem Knochenmarke gesehen haben: Von der Größe eines größeren Lymphozyten reicht sie hinauf bis zu 15 oder 20 μ, und wir haben zwischen den beiden Extremen alle nur denkbaren vermittelnden Formen. Konstant ist der Kern in hohem Grade chromatinarm und zeigt ein feinnetziges Gerüstwerk, in dessen Innern man regelmäßig zwei bis drei oder gar vier helle Kernkörperchen von zumeist sehr bedeutender Größe wahrnehmen kann; ich habe sie hier selbst bei Methylenblaufärbung gesehen. Jedenfalls ist das mit ein Ausdruck der gesteigerten Proliferationsfähigkeit der Zellen. Die Form des Kernes ist nichts weniger als konstant. Zumeist allerdings ist er irgendwie ovoid, seltener kreisrund; sehr häufig aber finden wir einfache oder mehrfache Kerbungen, häufig ist er auch plump gewunden — kurzum er bietet ein ähnliches Bild wie manchmal die kleineren Formen, nur scheint jenes eigenartige „Zerschnürtsein", das ich oben beschrieben habe, hier durch Lappung und plumpes Gewundensein ersetzt.

b) Kern,

c) Protoplasma,

Ebenfalls sehr wechselnd ist das Verhalten des Protoplasmas. An einem Teile der Zellen ist es ein schmaler Saum um den die ganze Zelle ausfüllenden Kern, häufig auch pseudopodienartig in größeren oder kleineren Warzen, oft sehr multipel abgehoben — genau so wie ich das für die „lymphoiden Markzellen" des Knochenmarkes besprochen habe. In anderen Zellen findet sich ein großer breiter Zelleib um den großen unregel-

mäßigen Kern, vorwiegend, aber doch recht schwach basophil. Auch jetzt können noch warzige Ausbuckelungen an einer oder an zwei Stellen vorhanden sein. Niemals zeigt das Protoplasma eine Spur von granulärer Differenzierung. Ob Körnchenbildungen im Sinne der „Granula" von Michaëlis und Wolff vorkommen, kann ich aus eigener Anschauung nicht sagen, da ich früher nicht nach Romanowsky färbte und in letzter Zeit mir keine frischen Fälle dieser Art zur Verfügung standen. Es erscheint mir aber in Analogie mit den entsprechenden Elementen des Markes recht unwahrscheinlich, daß solche vorkommen.

Während sich das Protoplasma dieser Zellen mit Methylenblau und zumeist auch mit Hämatoxylin, wenn auch erst nach längerer Einwirkung, so doch erträglich färbt, und zwar mit ersterem Farbstoffe stärker als der sehr blaße Kern, ist es gegen Triazid konstant ganz unempfänglich. Ich selbst habe wenigstens niemals eine nur halbwegs annehmbare Färbung mit diesem Farbstoffe erzielen können. Die Kerne erscheinen ganz schattenhaft hellgrün mit deutlich hervortretenden Kernkörperchen, das Protoplasma ist farblos — man muß überhaupt achtgeben, um die Zelle nicht gar zu übersehen, so ungemein blaß erscheinen sie. Daß der Farbstoff nicht daran schuld ist, davon überzeugen uns leicht die anderen im Blute kreisenden Leukozyten, insbesondere auch die gewöhnlichen normalen Lymphozyten; diese erscheinen gut und gleichmäßig gefärbt, genau so wie im normalen Blute. Es tut einem förmlich wohl, wenn man sich auf diese Weise überzeugen kann, daß nicht der Färber schuld ist an dem Mißlingen des Präparates, auch nicht der Farbstoff, sondern lediglich die Zellen selbst. d) Färbbarkeit.

Auffälligerweise findet man in einem solchen Blute hie und da eine Zelle, welche besonders kräftig gefärbt ist, sowohl mit Methylenblau usw. als auch mit Triazid, bei welcher Färbung sie ein braunrotes dunkelfarbiges Protoplasma zeigt. Diese Formen entsprechen mehr oder minder gänzlich den oben bereits beschriebenen „Reizungsformen" und heben sich sehr markant von den überhaupt kaum färbbaren Elementen des pathologisch erkrankten Lymphoidgewebes ab.

Wenn Sie sich an das erinnern, was ich vorher oben von den lymphoiden Markzellen mitgeteilt habe, so wird Ihnen von vorneherein der Gedanke sehr nahe liegen, daß man diese eben besprochenen Zellformen des lymphoiden Apparates von den Ähnlichkeit mit den lymphoiden Markzellen.

großen einkernigen ungranulierten Knochenmarkselementen überhaupt nicht zu trennen vermöge. Bei den meisten Färbungen ist es auch tatsächlich so. Wenn Sie mir heute bei Färbung mit Eosin-Hämatoxylin oder Eosin-Methylenblau eine derartige Zelle unter der Immersionslinse einstellen, so werde ich Ihnen wahrscheinlich ohneweiters antworten: Lassen Sie mich das ganze Präparat ansehen, und ich werde Ihnen sagen, was die Zelle bedeutet; aus der isolierten Zelle kann ich das nicht entscheiden.

Es sind ja noch immer gewisse kleine Unterschiede vorhanden; namentlich das verschiedene Verhalten des Protoplasmas gegenüber der Triazidfärbung muß ich hervorheben, weiters die besondere Neigung unserer Zellen zur Kernlappung, welche den lymphoiden Markzellen doch gewöhnlich sehr vollkommen fehlt — aber sie treten soweit zurück vor den unverkennbaren Ähnlichkeiten des Zelltypus, daß es schwer fällt, auf ihnen allein eine sichere Differenzierung in zwei ihrem Wesen und ihrer Bedeutung nach vollkommen verschiedene, ja noch immer in gewissem Grade entgegengesetzte Zellarten aufzubauen.

Möglichkeiten der Unterscheidung beider Zellformen.

Das einzige Mittel, welches uns tatsächlich erlaubt, eine Trennung beider vorzunehmen, ist meines Erachtens die Feststellung, daß unsere lymphoiden Zellen zwar eine sehr bedeutende Kernumwandlung und beträchtliches Protoplasmawachstum aufweisen können, *niemals aber einen Übergang zu neutrophiler Körnung erkennen lassen, daß sie vielmehr das Endglied einer Differenzierungs- oder besser gesagt, einer Entdifferenzierungsreihe vom typischen Lymphozyten her darstellen* und durch beide diese Charaktere ihre Zugehörigkeit zum granulationsfreien Entwicklungsgange des lymphoiden Systems dokumentieren. Diese Entscheidung kann man nur treffen, wenn man mindestens die ganze Differenzierungsreihe zum Lymphozyten hin im Blutpräparate verfolgen kann, noch besser, wenn man außerdem noch ein Triazidpräparat zu Rate zieht und dort sieht, daß die fraglichen Zellen erstens nicht die gute Färbbarkeit der lymphoiden Markzellen und zweitens nicht die Übergänge zur neutrophilen Körnung erkennen lassen, welche immer in untrüglicher Weise zu finden sind, wenn einmal die als „lymphoide Markzelle" bezeichnete Zellart in irgend beträchtlicher Zahl im Blute vorhanden ist. *Die gute Triazidfärbbarkeit und die Feststellung einer Differenzierungsreihe zum typi-*

schen Myelozyten wird auf der anderen Seite die Diagnose der myeloiden Markzelle zu sichern vermögen.

Sie ersehen aus dem Gesagten immerhin, daß wir uns hier in Grenzgebieten bewegen. Man sollte dem auch meines Erachtens durch die Namengebung Ausdruck verleihen. Wenn man die einen „Lymphozyten", die anderen etwa mit Nägeli „Myeloblasten" nennt, so wird man sich der nahen Verwandtschaft der beiden Typen nicht bewußt. Es war dieser Gedanke der einzige Grund, aus welchem ich für die erstbeschriebenen Markzellen nicht den an sich trefflichen Namen Nägelis angenommen habe. Nur um schon im Namen die anscheinend sehr nahen Beziehungen beider Typen zum Ausdrucke bringen zu können, wählte ich den umständlichen Namen: lymphoide Markzellen. Namengebung.

Und nun möchte ich mir erlauben, auch auf der lymphoiden Seite eine ähnliche Differenzierung in der Namengebung eintreten zu lassen, wie sie die Natur im Zellcharakter getroffen hat. Die letztbeschriebenen Zellen, welche offenbar einer bei rapider Wucherung eintretenden Entdifferenzierung gegen die beiden Systemen gemeinsame embryonale Stammzelle zu darstellen, sind keine Lymphozyten mehr in dem Sinne, wie wir das Wort im allgemeinen zu gebrauchen pflegen. Wenn wir auch diese Zellen Lymphozyten nennen, so müssen wir schließlich Pappenheim beipflichten, wenn er alle einkernigen ungranulierten Zellarten unterschiedslos so benennt. Das halte ich aber doch weder für zweckmäßig noch für begründet, und so schlage ich vor, alle jene an sich undifferenzierten atypischen einkernigen ungranulierten Zellformen, welche sich als Ausgangspunkt einer Differenzierungsreihe zum normalen typischen Lymphozyten hin darstellen und dadurch ihre Zugehörigkeit zum lymphoiden Systeme dokumentieren, einfach und ohne Präjudiz als „Lymphoidzellen" zu bezeichnen, während wir jene ähnlichen Zellen, welche sich bei genauer Betrachtung als Ausgangsglied einer Differenzierungsreife im Sinne der Granulationsbildung darstellen und dadurch ihre Zugehörigkeit zu dem eben durch Granulationsbildung gekennzeichneten Myeloidsysteme darstellen, als „lymphoide Markzellen" unterscheiden. Ich glaube, daß durch diese Namengebung sowohl die Ähnlichkeiten als die Unterschiede genügend gekennzeichnet sind.

Damit habe ich, meine Herren, die Besprechung der pathologischen Histologie der Leukozyten abgeschlossen.

Kritische Schlußbemerkungen.

Lassen Sie mich zum Schlusse noch einmal auf die in der letzten Vorlesung erörterten Streitfragen über die Bedeutung und Spezifität der Granula und über die Bildung der Leukozyten und den Zusammenhang ihrer verschiedenen Arten untereinander zurückkommen.

Ich möchte Ihnen jetzt meine eigene Meinung in beiden Fragen wiedergeben, welche sich auf den durch die anatomisch-embryologischen Untersuchungen der letzten Jahre sichergestellten histologischen Befunden im Markgewebe und auf meinen eigenen jahrelangen und sorgfältigen Beobachtungen des peripheren Blutes aufbauen.

Ich bin durch den Vergleich beider Untersuchungsreihen zu einem recht versöhnlichen Standpunkte gelangt, den ich Ihnen sogleich, um meinen Herren Mitstreitern im Blute nicht gar zu unähnlich zu werden, in einer Leukozytenstammtafel vorlegen werde. Ich habe mich bisher persönlich an dem Streite in keiner Weise beteiligt, konnte also jetzt, wo bereits Material genug vorliegt, ganz unvoreingenommen an die kritische Prüfung der Frage herantreten. Wenn ich es auch nicht wage, die Hoffnung auszusprechen, daß es mir gelingen werde, eine definitive Einigung anzubahnen, so hoffe ich doch, wenigstens keinen Nachteil zu schaffen und keine weitere Verwirrung anzustiften.

Die Granulafrage.

Wenden wir uns zur Besprechung der Granulafrage.

Einheitlichkeit: 1. der feinkörnigen Granulation.

Es liegt folgendes Material vor: Die feinkörnige Granulation, welche nach Ehrlich als neutrophil bezeichnet wird, weist unter verschiedenen Verhältnissen gegenüber Farbstoffen ein deutlich verschiedenes Verhalten auf. Konstant ist zunächst ihre Feinkörnigkeit innerhalb der allgemein anerkannten Grenzen, ferner ihr schwaches Lichtbrechungsvermögen, das matten Glanz zur Folge hat, endlich ihre geringe Widerstandskraft gegenüber Säuren und Basen (Alaun-Hämatoxylin). In bezug auf ihre Affinität zu Farbstoffen zeigen diese Granula zunächst Schwankungen, welche offenbar mit dem verschiedenen Grade der Differenzierung, beziehungsweise Reifung der sie tragenden Zellen im Zusammenhang stehen. In mangelhaft differenzierten Zellen (Myelozyten mit basophilem Protoplasma) überwiegt eine basophile Komponente; in den vollkommen ausgereiften (poly-

morphkernigen) Zellen überwiegt eine oxyphile Komponente mit Bevorzugung der dunklen Farbstoffe (Fuchsin); reine Oxyphilie besteht jedoch nicht. Zwischen beiden Entwicklungsstadien alle Übergänge, so daß wir wirklich berechtigt sind, die verschiedene Affinität zu Farbstoffen als Produkte eines Ausreifungsprozesses anzusehen, wie dies Ehrlich tut. Damit steht nicht im Widerspruch, daß bereits mehrfach auch in polymorphkernigen Zellen Granula gefunden wurden, welche bei einfacher Methylenblaufärbung den basischen Farbstoff aufnehmen: es handelt sich hier um Leukozytosen mit sehr vermehrter Zellbildung, bei welchen minder reife Elemente ins Blut gelangen konnten. Ob im Sinne Arnolds ein verschiedener momentaner Funktionszustand einen Einfluß auf die Farbenaffinität der Granula auszuüben vermag, läßt sich wohl objektiv nicht entscheiden. Und selbst wenn dies sicherzustellen wäre, so könnten wir zwar vielleicht sagen, daß im Sinne Arnolds der neutrophilen Granulation eine wesentliche aktive Teilnahme an den funktionellen Leistungen ihrer Träger zuzuschreiben sei, wogegen meines Erachtens gar nichts einzuwenden wäre, aber an der vollen Einheitlichkeit und Abgeschlossenheit der feinkörnigen Granulation gegenüber anderen Arten von Granulierung kann das nicht das mindeste ändern.

Meiner Überzeugung nach ist also die feinkörnige Granulation eine durchaus einheitliche und wahrscheinlich funktionell wohl charakterisierte. Ihr kommt gewiß für die Funktion der Zelle die größte Bedeutung zu; in welcher Art sie selbst daran teilnimmt, bleibe dahingestellt. Eben aus diesem Grunde ist aber die feinkörnige Granulation sehr wohl, ja geradezu ganz besonders geeignet, als kennzeichnendes Merkmal einer bestimmten Leukozytenart angesehen zu werden. Die Einwendungen Arnolds und seiner Schüler sind meines Erachtens insbesondere mit Rücksicht auf die Konstanz der klinisch-hämatologischen Befunde unstichhältig. Die Einwände Grünwalds, der Sekretzellen untersuchte, welche gewiß in dem anderen Medium und unter so ganz anderen Verhältnissen Veränderungen in einem gewissen Grade erleiden können, sind eben deswegen überhaupt a limine abzuweisen. Sie beruhen übrigens in ihren unanfechtbaren Grundlagen auf der vorwiegenden Oxyphilie der reifen Elemente, die nicht zu bestreiten, aber eben ganz allgemein Eigenschaft aller reifen neutrophilen Granula ist.

Der Name „neutrophil" ist vielleicht nicht der glücklichste.

Wir wissen nicht, in welcher Weise sich die „neutralen" Farbstoffe an den „neutrophilen" Substanzen verankern. Ich habe den Verdacht nicht los werden, daß der „neutrale" Farbenton das Ergebnis einer Mischfärbung mit sauren und schwach basischen Farbstoffen (z. B. einer monaziden Fuchsin-Methylgrünverbindung) sei, und stelle mir vor, daß die Substanz der neutrophilen Granula über eine Reihe sowohl basischer als saurer Haptophore verfüge. In den jugendlichen Entwicklungsstadien sind überwiegend basophile frei, später mehr oxyphile; es wäre nicht unmöglich, daß auch verschiedene momentane Funktionszustände eine Änderung mit sich bringen. Daraus erklärte sich einerseits das verschiedene Verhalten der Körnung gegenüber einfachen Lösungen saurer und basischer Farbstoffe, andererseits die gewiß nicht stets übereinstimmende Nuance bei Einwirkung „neutraler" Farbengemische, aus denen zum mindesten bei der Färbung selbst durch teilweise Dissoziation alle möglichen Komponenten frei gemacht werden können. Es sind dies vielleicht vom fachchemischen Standpunkte laienhafte Anschauungen; dann bitte ich sie zu korrigieren; ich bin leider nicht Fachmann.

Sei dem, wie es wolle; der Name „neutrophil" ist eingeführt und allgemein in Anwendung; da ihm auch ein einheitliches Substrat zugrunde liegt, so ist er beizubehalten.

2. der oxyphilen Körnung,

Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse bezüglich der oxyphilen, beziehungsweise eosinophilen Granulation.

Ein großer Teil der gegen deren Einheitlichkeit erhobenen Einwände beruht auf Untersuchungen am Kaninchen, das wegen der Pseudoeosinophilie seiner Spezialgranula gewiß kein geeignetes Objekt ist. Beim Menschen sehen wir zwar in den sich erst differenzierenden Zellen beträchtliche Abweichungen von dem ausgebildeten Typus des eosinophilen Granulums, indem Vergrößerung und Verkleinerung sowie eine stärkere Affinität zu den dunkelfarbigen sauren Farbstoffen (Fuchsin, Indulin) und sogar eine Aufnahmsfähigkeit auch für basische Farbstoffe (Methylenblau) besteht. Bei polymorphkernigen Zellen kommen einzelne derartige dunkelfärbige Granula nur mehr vor, wenn es sich um hochgradige Eosinophilie, also überstürzte Zellbildung handelt. Auf ähnlichen Einflüssen mag auch die gelegentlich beobachtete geringere Resistenz gegenüber Säuren und Basen (Alaun-Hämatoxylin) beruhen. Aus all dem läßt sich kein Einwand gegen die

Spezifität der Granulation und gegen ihre Verwendung als Zelleinteilungsgrund ableiten, zumal auch ihre wesentlichste physikalische Eigenschaft, das starke Lichtbrechungsvermögen, durchaus konstant ist.

Wirkliche Übergänge zwischen neutrophiler und eosinophiler Granulation lassen sich im Blute und in den blutbereitenden Organen weder unter normalen, noch unter pathologischen Verhältnissen nachweisen. Ehrlichs Lehre ist also auch bezüglich dieser Zellart in vollem Umfange aufrecht zu erhalten.

3. der Mastzellen.

Ebenso stellen die Mastzellen ohne Zweifel einen einheitlichen Typus dar. Maßgebend hiefür ist außer der Körnung der ungemein charakteristische allgemeine Zellhabitus. Auch die Granulation ist bei allen voll entwickelten Zellen einheitlich. Nur bei schwerer Störung der Markfunktion und sehr überstürzter Mastzellenneubildung kommen in einem Teile der sonst typischen Mastzellencharakter tragenden Zellen Granula von physikalisch und chemisch abweichenden Eigenschaften neben der typischen Körnung vor: Granula, welche nicht wasserlöslich sind und nur geringe Affinität zu basischen Farbstoffen haben, dagegen eine sich steigernde Verwandtschaft zu sauren. Wir können daher z. B. bei Eosin-Methylenblaufärbung allerdings recht seltsame Bilder bekommen: In einer Zelle weiße (negativ gefärbte, weil aufgelöste) Granula neben blauvioletten und roten. Ob diese abweichende Körnung auch eine Entwicklungsphase der typischen Mastzellenkörnung darstellt oder eine ihr fremdartige ist, möge dahingestellt bleiben. Im letzteren Falle würde sie eine ganz ausnahmsweise Abweichung vom regelmäßigen Typus der Granulationsbildung darstellen — eine pathologische Abirrung. Ich würde auch im letzteren Falle kaum glauben, daß man diese pathologische Bildung als Argument gegen das unter normalen Verhältnissen allgemein gültige Gesetz von der Spezifität der Granulation verwerten könnte.

Atypische Zellbilder des leukämischen Blutes.

Im myeloid-leukämischen Blute kommen eigentümliche atypische Zellbildungen vor. Einkernige Zellen mit basophilem Protoplasma und spärlichen, groben, schwach lichtbrechenden, offenkundig „amphophilen" Granulationen, die sich mit Eosin mattrot, mit Methylenblau-Jod dunkelbraun bis matt schwärzlich färben. Man kann nicht sagen, was aus diesen Gebilden bei der Ausreifung geworden wäre, denn sie sind nach allen ihren Charak-

teren unreife Zellen. Vielleicht gibt es ein gemeinsames Vorstadium eosinophiler und basophiler Körnung; das könnten sie vorstellen. Doch will ich aus Befunden unter so schwer pathologischen Verhältnissen keine weiteren Schlüsse ziehen.

Granula der Lymphozyten.

Die von Michaëlis und Wolff beschriebenen „azurophilen Granula" halte ich mit Ehrlich für nicht gleichwertig mit den übrigen Arten der Körnung. Nach meinen Erfahrungen kommen sie nur in Zellen vor, welche alle Charaktere des Alters an sich tragen; in den jedenfalls auf der „Höhe der Funktion" stehenden Zellen, den typischen kleinen gut färbbaren Lymphozyten mit schmalem Protoplasmasaume fehlen sie. Ebenso habe ich sie bisher in den als entwicklungskräftige Elemente aufzufassenden lymphoiden Markzellen nicht feststellen können; über die Lymphoidzellen fehlt mir Erfahrung; ich möchte glauben, daß sie in ihnen ebenfalls fehlen. Ich halte diese sogenannten Granula für Produkte „seniler" Protoplasmadegeneration und würde ihnen eine biologische Bedeutung nicht zuschreiben können.

Gehen wir sonach zur zweiten wichtigeren und schwierigeren Gruppe von Streitfragen über.

Sind alle ungranulierten Zellen als einheitlich aufzufassen? Gehen die granulierten Zellen aus ungranulierten hervor? Ist eine Scheidung der Blutbereitungsorgane in ein lymphoides und ein myeloides System berechtigt und erforderlich?

Bedeutung der ungranulierten Zellen des Markes.

Ich will als Grundlage unserer Erörterung der ersten Teilfrage die Anschauungen Pappenheims nehmen, welcher die volle Einheitlichkeit aller ungranulierten Elemente verficht und diese auch ohne Unterschied als Lymphozyten bezeichnet.

Er stützt sich bei seiner Auffassung zu einem wesentlichen Teile auf die Ergebnisse der Pyronin-Methylgrünfärbung, welche bei allen in Frage stehenden Zellen ein gleiches Verhalten von Kern und Protoplasma ergeben habe. Ich muß zunächst diesen Schlußfolgerungen entgegentreten. Die Rotfärbung des Protoplasmas aller ungranulierten Zellen beweist nichts mehr, als daß sie alle ein basophiles Protoplasma haben — sie beweist also nicht mehr, als die einfache Methylenblaufärbung, welche dasselbe zeigt. Pyronin ist eben ein Reagens auf basophiles Protoplasma, geradeso wie Methylgrün ein Reagens auf Kernchromatin

ist. Eben aus diesem Grunde ist weder die Pyronin-, noch die Methylenblaufärbung zur Aufdeckung von feineren Differenzen zwischen Zellen mit basophilem Protoplasma geeignet. Hiefür erweisen sich die Färbungen mit Triazid und Eosin-Hämatoxylin als wesentlich fruchtbarer.

Es ist ein unbestreitbares und großes Verdienst Pappenheims, daß er die hohe Bedeutung der einkernigen ungranulierten Zellen des Knochenmarkes gegenüber der Geringschätzung, welche diesen Elementen von Seite Ehrlichs widerfahren ist, nachdrücklich hervorhob. Leider hat er sich infolge mangelhafter Differenzierung zu der nach meinem Dafürhalten nicht richtigen einheitlichen Auffassung aller einkernigen Elemente hinreißen lassen und durch eine verallgemeinernde Verwendung des Namens „Lymphozyt" die Verwirrung, welcher er steuern wollte, gerade ins Heillose gesteigert. Das schmälert sein Verdienst insolange, als es nicht gelingt, diese Verwirrung zu beseitigen.

Ihre Trennung von den Zellen des Lymphoidgewebes.

Nägeli war wohl der erste, der Pappenheim mit wuchtigen Argumenten entgegengetreten ist, indem er die ungranulierten Markelemente von den eigentlichen Lymphozyten des lymphoiden Systems durch eine Reihe von Unterscheidungsmerkmalen trennte. Leider sind seine Merkmale nach den Ergebnissen der hämatologischen Beobachtung nicht durchaus einwandfrei. Die Beobachtung des myeloid-leukämischen Blutes ermöglicht eine genaueste Kennzeichnung der sicher dem Myeloidgewebe entstammenden ungranulierten Zellen. Diese haben allerdings eine andere Größe als die Lymphozyten des peripheren Blutes; aber sie tragen zweifellos und ebensogut wie jene Kernkörperchen, sogar gewöhnlich mehr als eines; sie haben auch ganz regelmäßig ein recht stark basophiles Protoplasma, das sich mit Methylenblau stärker färbt als der Kern. Auch die Kernstruktur nähert sich wenigstens in den wohl zweifellos auch zu den ungranulierten Markzellen gehörigen „Reizungsformen" jener der Lymphozyten. Dagegen tritt die Differenz des Zellcharakters gegenüber den reifen Lymphozyten sehr gut zutage bei Eosin-Hämatoxylin- und namentlich bei Triazidfärbung. Bei ersterer färbt sich das Protoplasma wesentlich stärker mit Hämatoxylin als jenes auch der bestfärbbaren Lymphozyten; bei letzterer ist ebenfalls das Protoplasma dunkelfarbig, insbesondere in den Reizungsformen; auch der Kern zeigt eine sonst nirgends beobachtete Färbung, welche den typischen Lymphozyten durchaus abgeht: Bei tadel-

loser Fixation anstatt des Hellgrüns des Lymphozytenkernes ein düsteres Graublau. Bei Eosin-Methylenblaufärbung treten die Unterschiede aus dem schon oben angeführten Grunde zurück; hier ist nur mehr die stets beträchtlichere Größe für die Unterscheidung heranzuziehen.

Zweifellos sprechen mit großem Gewichte für die Trennung beider Zellsysteme auch biologische Eigenschaften, wie Nägeli treffend hervorhebt. Es lassen sich zunächst in durchaus unzweifelhafter Weise Übergänge von lymphoiden Markzellen zu Myelozyten verschiedener Körnung feststellen. Den ungranulierten Markzellen kommt also die Fähigkeit der Granulationsbildung durch Differenzierung des Protoplasmas zu. Ein analoger Vorgang ist aber niemals bei Zellen des lymphoiden Systems zu sehen, weder bei den Lymphozyten des strömenden Blutes, noch in den lymphoiden Organen selbst, auch nicht bei höchstgradiger Proliferationssteigerung ihres Gewebes. Gerade unter diesen Verhältnissen müßte man doch, wenn ihnen überhaupt die Fähigkeit, z. B. neutrophile Granula so wie die ungranulierten Markzellen zu bilden zukäme, davon irgendwann einmal eine Andeutung finden. Davon aber ist keine Rede.

Ich leite aus diesen tatsächlichen Differenzen die Berechtigung ab, auch weiterhin die ungranulierten Elemente des Markes von den Lymphozyten zu trennen. Zu vergessen ist dabei nicht, daß echte Lymphknötchen im Knochenmarke vorkommen, und daß diese bei Wucherung des ganzen lymphoiden Apparates zu einer lymphoiden Umwandlung geringerer oder gar allgemeiner Ausbreitung im Knochenmarke zu führen vermögen. Dann sind die Verhältnisse im Marke genau so wie in den gleichzeitig erkrankten spezifischen lymphoiden Apparaten.

Entwicklungsgeschichtlicher Zusammenhang zwischen lymphoidem und myeloidem System.

Hingegen kann es nicht dem leisesten Zweifel unterliegen, daß entwicklungsgeschichtlich beide Systeme innig zusammenhängen, aber nur im embryonalen Leben. Annäherungen finden beim erwachsenen Menschen nur unter jenen pathologischen Zuständen statt, welche unter schrankenloser Wucherung der zelligen Elemente des einen Systems eine mehr oder minder vollständige Rückkehr in embryonale Bildungsphasen bedeuten: Das sind im Gebiete der leukoblastischen Apparate die Leukämien und deren Homologe.

Nach meinen Vorstellungen geht die Entwicklung sowohl des lymphoiden als des myeloiden Systems von einer gemeinsamen

Stammzelle aus, welche einkernig und chromatinarm, groß, ungranuliert ist, und welche in der ersten Periode des fötalen Lebens als einziger Vertreter der hämoglobinfreien Zellen im Blute vorkommt. Sobald die Anlagen der beiden leukoblastischen Apparate entstanden sind, nehmen in ihnen die Zellen einen verschiedenen Differenzierungsgang, welcher schließlich zu ganz verschiedenen Endprodukten führt. Das Lymphoidgewebe bleibt auf einer tieferen Stufe stehen und verharrt auf ihr unter allen Umständen; es bildet nur Lymphozyten. Das Myeloidgewebe erreicht die höchsten Grade von Differenzierung, welche wohl überhaupt, vielleicht abgesehen vom zentralen Nervensysteme vorkommen: Die Differenzierung nimmt sogar mehrfache Wege.

Entwicklung und Vermehrung der granulierten Markzellen unter normalen und pathologischen Verhältnissen.

Die Grundlage aller Zellentwicklung auch im Marke sind einkernige ungranulierte Zellen mit basophilem Protoplasma und blaßem Kern. Von ihnen geht zweifellos im embryonalen Leben und ebenso zweifellos bei der hochgradig gesteigerten Leukozytenbildung des myeloid-leukämischen Markes die Bildung granulierter Elemente aus, welch letzteren aber zunächst in ihren niedrigsten einfach- und blaßkernigen Entwicklungsstufen noch die Fähigkeit selbständiger differenzierender Kernteilung gewahrt bleibt. Es dürfte sonach keinem Zweifel unterliegen, daß unter Verhältnissen, welche nur geringe Anforderungen an die blutbereitenden Organe stellen, also beim normalen erwachsenen Menschen, diese Myelozyten imstande sein können, allein durch ihre Teilung ohne Zuhilfenahme der ungranulierten Elemente einerseits ihre Art zu erhalten, andererseits noch genug Elemente zur Ausreifung zu polymorphkernigen Zellen zu stellen. Für solche Verhältnisse mag also die direkte Mitwirkung der ungranulierten Elemente gar nicht erforderlich sein. Ob sie (in jedenfalls unvergleichlich geringerem Ausmaß als bei der myeloiden Leukämie) dennoch vorhanden ist, müßte erst nachgewiesen werden. Jedenfalls steht so viel fest, daß jeder irgendwie wesentliche Reiz, der auf das leukozytenbildende System des Markgewebes einwirkt, eine Proliferation vor allem auch der ungranulierten Markelemente zur Folge hat (siehe Nägeli). Diese erscheinen somit gewissermaßen als eine Reservekraft des Markgewebes, die vielleicht in ruhigen Zeiten ungenützt bleibt, in stürmischen Zeiten aber zum Nachschubdienste gewiß in hohem Grade herangezogen wird und bei der myeloiden Leukämie bereits wieder eine ähnliche Rolle spielen dürfte, wie im embryonalen Leben, wo eben an das Blutbildungs-

system schon normalerweise die höchsten Anforderungen gestellt werden.

Bei den geringeren Reizen der Infektionskrankheiten, Karzinomkachexie usw. ist vielleicht die Entwicklungsform der ungranulierten Elemente des Markgewebes eine etwas andere („Reizungsformen") als bei der einen Rückschlag in embryonale Entwicklungsverhältnisse darstellenden myeloiden Leukämie („lymphoide Markzellen").

Erythroblastenbildung aus hämoglobinfreien Vorstufen.

Ich möchte hier gleich ein Wort über Erythrozytenbildung anfügen. Gerade diese bietet einen Hauptangriffspunkt auf Pappenheims Vereinheitlichung aller ungranulierten Zellen. Er läßt aus den „großen Lymphozyten" direkt Megaloblasten, aus den kleinen Lymphozyten aber Normoblasten hervorgehen.

Da spielen sich doch in der Pathologie eigentümliche Dinge ab! Zunächst einmal ist es verwunderlich, daß unter physiologischen Verhältnissen gerade an jenen Stellen, wo große und kleine Lymphozyten täglich zu Millionen gebildet werden, niemals auch nur ein einziger Erythroblast entsteht. Und noch verwunderlicher ist es, daß auch in jenen Erkrankungsfällen, wo eine ganz ungeheure Steigerung dieser Lymphozytenwucherung stattfindet, ja wo sogar die lymphoiden Zellen in ihrer Entdifferenzierung auf eine wahrscheinlich geradezu embryonale Stufe zurückgehen (akute Lymphomatosen), aus den lymphoiden Zellen noch immer keine Erythroblasten gebildet werden — nicht einmal, wenn diese Wucherung das Knochenmark selber erfaßt oder gar von den lymphoiden Elementen des Knochenmarkes ihren Ausgang nimmt. Da wird sogar im Gegenteile durch Verdrängung des wirklich Erythroblasten bildenden Myeloidgewebes mit seltenen Ausnahmen eine schwerste Anämie erzeugt — und obgleich der Organismus das höchste Bedürfnis nach Erythrozyten hat, ist in keinem einzigen der wuchernden lymphoiden Herde eine Erythroblastenbildung zu beobachten.

Das sollte aber doch alles nicht sein, wenn die Lymphozyten, die kleinen sowohl als die großen, durch einfache Hämoglobinaufnahme in kernhaltige Erythrozyten überzugehen vermögen und nach Pappenheim tatsächlich auch sogar unter normalen Verhältnissen übergehen. Hätte Pappenheim etwas weniger auf das Pyronin geschworen und etwas mehr der kli-

nischen Pathologie Beachtung geschenkt, ich glaube, er wäre nie zu seinen Schlüssen gekommen.

So direkt, wie sich das Pappenheim vorstellt, ist wohl übrigens die Entstehung der Erythroblasten selbst aus den ungranulierten speziifschen Elementen des Markgewebes nicht, auch nicht unter jenen Verhältnissen, welche eine möglichst vollständige Rückkehr zum embryonalen Typus bezüglich Erythrozytenbildung darstellen: bei der perniziösen Anämie. Pappenheim legt ja sonst so großes Gewicht auf den Kern. Und da wundert es mich wiederum, daß ihm der ganz ungeheure Unterschied in der Kernstruktur zwischen einem Megaloblasten und einem großen Lymphozyten einerseits, einem Normoblasten und einem kleinen Lymphozyten andererseits so gar nicht aufgefallen ist. Man sieht doch niemals, daß ein Lymphozyt, wenn er älter wird, den Kerncharakter eines Erythroblasten bekommt, im Gegenteil. Ebenso groß ist aber der Unterschied zwischen der Kernstruktur einer lymphoiden Markzelle größter oder kleinster Art und einem Megaloblasten. Ich glaube also auch nicht, daß ein direkter Übergang zwischen diesen Elementen stattfindet. Mir erscheinen vielmehr sogar die lymphoiden Markzellen schon wieder als Differenzierungsprodukte in der Reihe zu den granulierten Leukozyten hin. Vielleicht vermitteln andere, noch nicht näher erforschte Zwischenglieder, welche nicht ins Blut gelangen, und welche allerdings den „Reizungsformen" — nach ihren Produkten zu schließen — ähnlicher sein dürften als den lymphoiden Markzellen, die Bildung der Erythroblasten aus hämoglobinfreien Elementen.

Ob überhaupt Leukozyten und Erythroblasten dieselbe Stammzelle haben, wäre übrigens erst einwandfrei zu erweisen. Es gibt Erythroblasten, ehedem es Leukozyten auch in der primitivsten Form gibt; und Gefäßendothelien haben im frühesten Embryonalleben die Funktion der Bildung von kernhaltigen Erythrozyten. Liegt es nicht nahe, an ähnliches zu denken — ich meine nur im Bereiche des Knochenmarkes — wenn das Mark auf eine embryonale Entwicklungsstufe zurücksinkt?

Eine solche Bildung von Erythroblasten aus hämoglobinfreien Vorstufen ist übrigens zwar für den Embryo erwiesen und dürfte wohl auch bei Rückkehr der Erythrozytenbildung auf eine mehr minder vollständig embryonale Stufe beim

Erwachsenen anzunehmen sein; ob sie aber unter physiologischen Verhältnissen beim erwachsenen Menschen überhaupt zu Recht besteht, wäre erst zu erweisen. Ich stelle mir die Sache ganz analog vor, wie ich es oben für die granulierten Leukozyten schilderte. Sicher vermehren sich im normalen Marke des erwachsenen Menschen die Erythroblasten selbsttätig durch Teilung. Wenn keine erhöhten Ansprüche an die Erythroblastenbildung gestellt werden, mag vielleicht diese Regeneration vollkommen ausreichen zur Befriedigung des Erythrozytenbedürfnisses; tritt eine erhöhte Anforderung ein, so würden dann wieder die Ersatzreserven herangezogen werden.

Jetzt komme ich zu einem weiteren wichtigen Punkte.

Unter normalen oder in bezug auf Leukozytenbildung nicht ganz schwer pathologischen Verhältnissen ist es also meines Erachtens ohne Schwierigkeiten möglich, die zelligen Elemente, und zwar auch die mindestdifferenzierten Entwicklungsstufen des lymphoiden und des myeloiden Gewebes voneinander zu trennen.

Annäherung der beiden Leukozytenbildungs-Systeme bei akuter Wucherung.

Ich habe aber bereits oben ausführlich auseinandergesetzt, daß die Unterscheidungen unsicher oder wenigstens sehr schwierig werden, wenn es im lymphoiden Systeme zu einer mit Entdifferenzierung einhergehenden Wucherung kommt, im allgemeinen um so schwieriger, je stürmischer die Wucherung verläuft. Dann sind die Produkte dieser unter das normale Maß der Mindestdifferenzierung im lymphoiden Systeme herabgehenden Entdifferenzierung recht ähnlich den mindestdifferenzierten leukozytären Elementen des ebenfalls in embryonaler entdifferenzierender Wucherung begriffenen Myeloidgewebes. Kleine Unterschiede bestehen zwar noch, insbesondere ist die stets erkennbare Differenzierungsrichtung in beiden Fällen eine diametral entgegengesetzte: Aber die Annäherung beider Systeme ist zweifellos.

Nun, meine Herren, das ist gerade ein Kernpunkt meiner Auffassung: Es muß so sein, wenn es richtig ist, wie ich meine, daß beiden Systemen ein gemeinsamer Ausgangspunkt zugrunde liegt, von welchem aus sie in ihrer Weiterentwicklung entgegengesetzte Bahnen einschlagen. Die Lymphoidzellen des einen und die lymphoiden Markzellen des anderen Systems müssen eben schon recht nahe an der ursprünglich gemeinsamen Stammzelle beider Systeme stehen.

Stellung der großen einkernigen Leukozyten im Systeme.

Und noch einen dunklen Punkt muß ich berühren. Was ist mit den großen mononukleären Leukozyten und den Übergangsformen?

Über diese Zellen gibt keine der Hypothesen eine allseits befriedigende Aufklärung. Ehrlich läßt sie als unreife Elemente ins Blut gelangen, was Pappenheim, wie ich glaube mit vollem Rechte, als sehr unwahrscheinlich hingestellt hat. Pappenheim selbst läßt sie in den blutbereitenden Organen aus seinen großen Lymphozyten durch Alterung entstehen. Jedenfalls lehnt auch er einen Übergang der Lymphozyten des zirkulierenden Blutes in die großen mononukleären Leukozyten ab. Dieses letztere ist auch — glaube ich — das einzige, was man heute schon als ziemlich sicher hinstellen darf. Ich untersuche acht Jahre Blut, und zwar viel Blut, und habe nie einwandfrei einen Übergang noch so alter Lymphozyten in große mononukleäre Leukozyten beobachten können. Ich glaube auch, daß diesbezüglich Pappenheims Lehre von der Bedeutung der chromatinarmen und chromatinreichen Kerne von Belang ist. Die blaßkernige Zelle stellt phylo- und ontogenetisch die tiefere Stufe dar; ist das richtig, so ist selbstverständlich ein Übergang eines dunkelkernigen Lymphozyten in einen blaßkernigen großen mononukleären Leukozyten nicht möglich. Übrigens machen die großen mononukleären Leukozyten gar nicht den Eindruck des direkt Greisenhaften; sind sie doch noch imstande, eine Kernlappung einzugehen. Vorstufen von neutrophilen Zellen werden sie wohl auch schwerlich sein können. Erstens einmal ist es, wie gesagt, höchst unwahrscheinlich, daß eine ganz unreife Zellform im Gegensatze zu dem sonst überall gewahrten Prinzipe unter physiologischen Verhältnissen ins Blut gelangt. Andererseits können nach Pappenheim blaßkernige Zellen immer nur auf dem Wege der differenzierenden indirekten Kernteilung in dunkelkernige übergehen. Von einer Mitose eines großen mononukleären Leukozyten, beziehungsweise einer Übergangsform im Blute hat aber doch wohl noch kein Mensch etwas gesehen.

Ich habe von diesen eigentümlichen Zellen immer den Eindruck bekommen, daß sie die Produkte eines rudimentären Leukozytenbildungssystems darstellen dürften, das jedenfalls dem myeloiden Systeme nahesteht und es ihm gleich tun möchte, aber eben jenen hohen Grad von Differenzierungsfähigkeit unter normalen Verhältnissen eingebüßt hat.

Virchow hat die großen mononukleären Leukozyten aus der Milz abgeleitet, und man hat sie lange Zeit als „Splenozyten“ bezeichnet, bis Ehrlich sie auch im Knochenmarke entstehen ließ. Trotzdem nehmen sowohl Ehrlich als Pappenheim an, daß unter normalen Verhältnissen die Hauptmenge dieser Zellen aus der Milz stamme. Jedenfalls sollen sie dort vorkommen.

Ich bin auf dem Wege der Überlegung zu demselben Schlusse gekommen. Die Milz hat sicher im embryonalen Leben myeloide Funktion, und es ist jetzt bereits allgemein bekannt und wird immer offenbarer, daß sie zu myeloider Funktion nicht nur im höchsten Ausmaße bei der myeloiden Leukämie zurückkehrt, sondern auch in minderem Grade in diese Funktion wieder hineinwächst, wenn andere schwere Schädlichkeiten das Knochenmark betreffen: Karzinose, schwere Infektionen. Man sieht auch häufig bei Erkrankungen, welche eine bedeutende Milzschwellung hervorrufen, eine Zunahme unserer Zellen, ohne daß das konstant wäre. Ich kann mir also ganz gut vorstellen, daß die leukozytenbildende Funktion in der Milz unter normalen Verhältnissen nur sehr rudimentär geübt wird und zu spärlichen und wenig differenzierten Endprodukten führt: den großen mononukleären Leukozyten und den Übergangsformen; diese letzteren verfallen als solche dem physiologischen Abbau. Wir hätten es also nach dieser rein hypothetischen Vorstellung in den großen mononukleären Leukozyten mit den mangehaft differenzierten Produkten einer im embryonalen Leben vom Myeloidsysteme abgezweigten und zu rudimentärer Entwicklung eingeschrumpften Leukozytenbildungsstätte zu tun, die zu lebhafter und ordentlich differenzierender Tätigkeit erst wieder durch schwere Reize, welche das leukoblastische Myeloidgewebe betreffen, aus ihrem Schlummerzustande erweckt wird und dann aber auch ebenso differenzierte Elemente wie das Markgewebe zu liefern vermag.

Ich betone nochmals, daß diese Vorstellung reinste Hypothese ist.

Zusammenfassung der eigenen Anschauungen über Leukozytenbildung.

Wenn ich also in kurzen Worten jetzt meine Anschauungen über Leukozytenbildung zusammenfasse, so wären sie folgende:

Im frühen Embryonalleben gibt es nur eine Leukozytenart: eine einkernige granulationslose Zelle. Später hat der Organismus höheres Bedürfnis, es werden verschiedene Leukozyten ge-

bildet, und zwar unter Arbeitsteilung. Es entstehen aus dem Gewebe des Mesenchyms zwei Systeme, welche nun einen getrennten und verschiedenen Entwicklungsgang nehmen.

Das eine System, das lymphoide, bildet durch Teilung von großen blaßkernigen ungranulierten Zellen (große Lymphozyten, Lymphogonien) das Endprodukt seiner Differenzierungsreihe, den kleinen Lymphozyten der Lymphe und des strömenden Blutes. Dieser altert und geht als Lymphozyt zugrunde. Eine embryonale Vorstufe der großen Lymphozyten, welche im normalen Lymphoidgewebe später nicht mehr vorkommt, dürften die Lymphoidzellen darstellen; sie stehen jedenfalls der gemeinsamen Stammzelle sehr nahe.

Das zweite System ist das myeloide. Das charakteristische Moment seiner leukoblastischen Differenzierung ist die Bildung granulierter Elemente. Diese erfolgt zunächst aus ungranulierten einkernigen Elementen, welche von den großen Lymphozyten des lymphoiden Apparates zu scheiden sind: den lymphoiden Markzellen. Diese bilden unter Abnahme der Basophilie des Protoplasmas und unter Zunahme der Protoplasmamasse Granulationen, und zwar feinkörnige und grobkörnige. Auf diese Weise entstehen Myelozyten mit blaßem Kerne (Myelozyten-Mutterzellen); die feinkörnige Granulation entwickelt sich zu der charakteristischen neutrophilen, die grobkörnige ist (vielleicht nach einer gemeinsamen Zwischenstufe?) in oxyphile (eosinophile) und basophile (Mastzellen-) Körnung zu trennen. Es entstehen also neutrophil, eosinophil und basophil granulierte Myelozyten. Diese können unter Kernlappung altern.

Diese Myelozyten-Mutterzellen besitzen trotz der bereits eingetretenen Differenzierung ihres Protoplasmas noch die Fähigkeit der indirekten Kernteilung, sind also imstande, ihre Art zu erhalten und Zellen für das periphere Blut zu liefern. Durch die indirekte Teilung entstehen aus ihnen Myelozyten-Tochterzellen, meist kleinere Gebilde mit dunkelfärbigen Kern und je nach der Ausgangszelle mit neutrophiler, eosinophiler oder basophiler (Mastzellen-) Körnung. Diese Zellen reifen unter Entwicklung eines polymorphen Kernes und Vervollkommnung der Granulation zu den polymorphkernigen neutrophil, eosinophil und basophil granulierten Zellen aus. Diese sind die reifen Endprodukte der Entwicklung, sie gelangen ins Blut und gehen dort als solche zugrunde. Übergänge zwischen ihnen fehlen.

Die großen mononukleären Leukozyten und Übergangsformen sind in ihrer Entstehung unklar. Sie könnten einem im embryonalen Leben abgezweigten Leukozytenbildungsstamme entspringen, welcher unter normalen Verhältnissen (wahrscheinlich in der Milz lokalisiert) nur rudimentär tätig ist. Auch sie gehen als solche im Blute zugrunde, machen keine weitere Entwicklung zu neutrophilen Zellen durch und gehen jedenfalls auch nicht im zirkulierenden Blute aus Lymphozyten hervor.

Das nebenstehende Schema gibt diesen Entwicklungsgang wieder. —

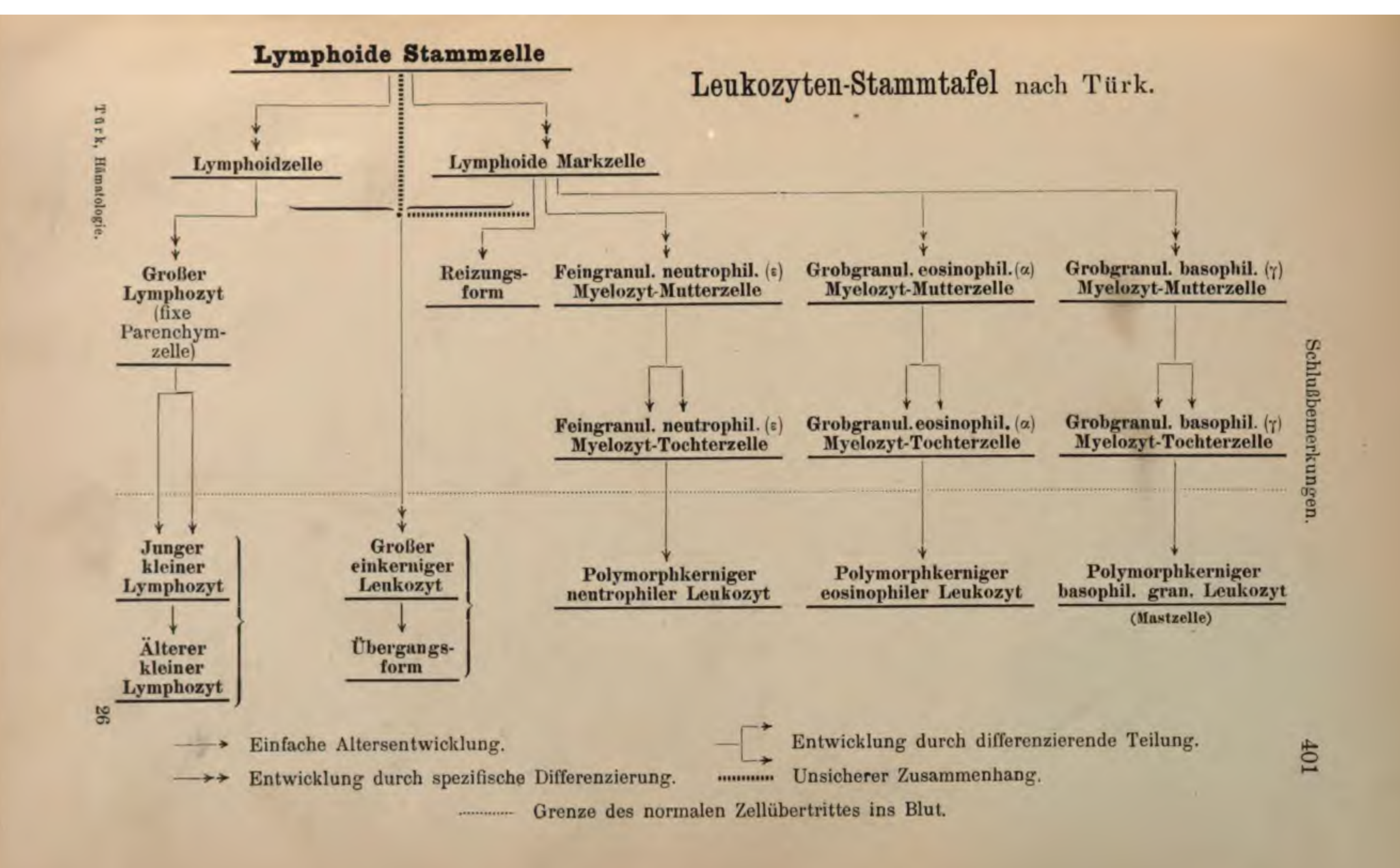
Jetzt erübrigt mir nur noch, eine ganz ketzerische Frage zu streifen.

Histiogene Leukozytenbildung.

Werden denn wirklich Lymphozyten, neutrophile, eosinophile und Mastzellen nur in den blutbereitenden Organen gebildet? Oder entstehen sie auch anderwärts, und wo, und wann und wie?

Das sind Fragen für große Arbeiten der Zukunft. Allmählich beginnt man an sie schüchtern heranzutreten, und es gewinnt den Eindruck, daß sehr wahrscheinlich mannigfache Gewebe imstande sind, auf bestimmte Reize hin Zellen zu bilden, welche jenen des Blutes ganz analog sind. Zunächst ist dies für die Mastzellen bereits heute ganz allgemein angenommen, und man unterscheidet präzise die histiogenen Mastzellen von den hämatogenen. Sehr wahrscheinlich ist eine derartige Lokalentstehung auch für die eosinophilen Zellen, die in manchen Gebieten (Haut, Tumoren, Schleimhäute des Respirationstraktes, des Darmes) gelegentlich in ganz ungeheuren Mengen vorkommen und zu Millionen in die Sekrete übergehen. Und es kommen auch viele einkernige Eosinophile in den Sekreten vor! Neusser hat schon vor vielen Jahren die Annahme von der lokalen Entstehung der Eosinophilen vertreten. — Die eine der Lehren von der Entzündung, welche z. B. Stricker vertreten hat, läßt die Eiterkörperchen nicht durch Auswanderung aus der Blutbahn an Ort und Stelle gelangen, sondern läßt sie aus den autochthonen Zellen der Gewebe entstehen. Auch die Lymphozyten läßt man bereits außerhalb der Gefäße aus lymphozytoiden Zellen entstehen.

Kurzum, es gärt; die Frage von der Möglichkeit der lokalen Entstehung aller leukozytären Zellarten, welche im Blute kreisen, auch in den verschiedensten Geweben, allerdings nur auf spezi-


Leukozyten-Stammtafel nach Türk.
Lymphoide Stammzelle
Lymphoidzelle
Lymphoide Markzelle
Großer Lymphozyt (fixe Parenchymzelle)
Reizungsform
Feingranul. neutrophil. (ε) Myelozyt-Mutterzelle
Grobgranul. eosinophil. (α) Myelozyt-Mutterzelle
Grobgranul. basophil. (γ) Myelozyt-Mutterzelle
Feingranul. neutrophil. (ε) Myelozyt-Tochterzelle
Grobgranul. eosinophil. (α) Myelozyt-Tochterzelle
Grobgranul. basophil. (γ) Myelozyt-Tochterzelle
Junger kleiner Lymphozyt
Älterer kleiner Lymphozyt
Großer einkerniger Leukozyt
Übergangsform
Polymorphkerniger neutrophiler Leukozyt
Polymorphkerniger eosinophiler Leukozyt
Polymorphkerniger basophil. gran. Leukozyt
(Mastzelle)
Einfache Altersentwicklung.
Entwicklung durch spezifische Differenzierung.
Entwicklung durch differenzierende Teilung.
Unsicherer Zusammenhang.
Grenze des normalen Zellübertrittes ins Blut.

fische Reize hin, zieht immer weitere Kreise. Vielleicht wird schon die nahe Zukunft uns Aufklärung bringen.

Es unterliegt keinem Zweifel, daß jene Zellen, welche unter normalen Verhältnissen und auch zumeist unter pathologischen im Blute kreisen, ausschließlich aus den blutbereitenden Organen stammen. Wird aber die histiogene Entstehung aller dieser Zellarten als möglich betrachtet, dann wäre der umgekehrte Vorgang schließlich auch einmal möglich, und es könnte sein, daß z. B. manche Eosinophilien des Blutes bei Hautkranheiten oder Wurmerkrankungen auf eine lokale histiogene Eosinophilie zurückzuführen wären.

Ich will Sie heute auf diese Fragen nur hingewiesen haben. Und damit schließe ich die erste Hälfte unserer Vorlesungen.



LANE MEDICAL LIBRARY
To avoid fine, this book should be returned on or before the date last stamped below.


J145 Türk, W. 43505
T92 Vorlesungen über
1.T. klinische Hämatologie
1904
NAME
DATE DUE

